



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Descripción Morfológica e Histológica del Aparato
Reproductor Masculino del Murciélago Pescador
Myotis vivesi Menegaux, 1901 (Chiroptera: Vespertilionidae)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

PRESENTA:

MARCIA VERÓNICA CARMONA MALDONADO



TUTOR

M. EN C. JOSÉ JUAN FLORES MARTÍNEZ

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de datos del Jurado

1. Datos del alumno	1. Datos del alumno
Apellido paterno	Carmona
Apellido materno	Maldonado
Nombre(s)	Marcia Verónica
Teléfono	53685223
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad	Facultad de Ciencias
Carrera	Biología
Número de cuenta	400096427
2. Datos del tutor	2. Datos del tutor
Grado	M en C
Nombre(s)	José Juan
Apellido paterno	Flores
Apellido materno	Martínez
3. Datos del sinodal 1	3. Datos del sinodal 1
Grado	Dra
Nombre(s)	Maricela
Apellido paterno	Villagrán
Apellido materno	Santa Cruz
4. Datos del sinodal 2	4. Datos del sinodal 2
Grado	Dr
Nombre(s)	Luis Gerardo
Apellido paterno	Herrera
Apellido materno	Montalvo
5. Datos del sinodal 3	5. Datos del sinodal 3
Grado	M en C
Nombre(s)	Miguel Ángel
Apellido paterno	León
Apellido materno	Galván
6. Datos del sinodal 4	6. Datos del sinodal 4
Grado	M en C
Nombre(s)	José Ignacio
Apellido paterno	Fernández
Apellido materno	Méndez
7. Datos del trabajo escrito	7. Datos del trabajo escrito
Título	Descripción morfológica e histológica del aparato reproductor masculino del murciélago pescador <i>Myotis vivesi</i> Menegaux, 1901 (Chiroptera: Vespertilionidae)
Número de páginas	63
Año	2007

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada al Dr. L. Gerardo Herrera M. para la realización de este trabajo.

A Bat Conservation International y al Programa de Conservación de Murciélagos Mexicanos por las becas otorgadas a Dr. L. Gerardo Herrera M. y a M. en C. J. Juan Flores Martínez para la realización de este proyecto.

A los miembros del jurado la Dra. Maricela Villagrán Santa Cruz, Dr. L. Gerardo Herrera Montalvo, M. en C. J. Juan Flores Martínez, Dr. Miguel Ángel León Galván, y al M. en C. José Ignacio Fernández Méndez por las revisiones que contribuyeron a mejorar este trabajo.

A la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales por el permiso de colecta otorgado para llevar a cabo el presente estudio y a la Secretaría de Marina y Armada de México por su generoso apoyo en la transportación a Isla Partida.

A Juan Pablo Gallo, Lorayne Meltzer, Tad Pfister y al Prescott Collage Kino Bay Center por el apoyo logístico otorgado. Jesús Ventura, Alfredo Zavala y Carlos Godínez por la ayuda durante el trabajo de campo. A Yesenia Jiménez C., Melina Maravilla R. por su ayuda durante el trabajo de laboratorio. A Mariana Reyna mi compañera durante las salidas de campo, el trabajo de laboratorio y sobretodo por tu amistad.

Al Dr. Mario García Lorenzana, por su asesoría y ayuda en el montaje de las técnicas histológicas. Al Dr. Ricardo López Wilchis y Dra. Rosa María Viguera por su orientación y comentarios para mejorar este estudio, muchas gracias.

Al M. en C. Gilberto García R. por tu gran ayuda y apoyo incondicional durante el desarrollo de éste trabajo.

A Hugo Carmona quien ayudo en la elaboración de los dibujos y la edición de las imágenes histológicas, gracias hermano por tu dedicación y valioso tiempo.

Mi más profundo agradecimiento al Dr. L. Gerardo Herrera Montalvo y al Dr. Miguel Ángel León Galván por el apoyo recibido de ambos. Miguel, gracias por tu tiempo, dedicación y sobretodo por la paciencia al compartir tus conocimientos conmigo.

Dedicatorias

A mis padres, gracias por su esfuerzo, y sobretodo por su amor incondicional, ustedes son
mi mayor motivación.

A mis hermanos por el apoyo, su gran cariño, y sus bromas.

A mi abuelita por su preocupación y cuidados.

A mis amigas Yesy, Yhajaira, Yaz, Jacco, Güeda, Chabe, Mel, Vane y Fa y para todas
aquellas personas que de alguna u otra forma me motivaron para terminar, este trabajo
también es suyo.

CONTENIDO	Página
Resúmen.	i
Abstract.....	ii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 APARATO REPRODUCTOR MASCULINO.....	4
1.1 ESPERMATOZOIDE.....	6
1.3 BÁCULO.....	8
II. ANTECEDENTES.....	11
2. EL MURCIÉLAGO PESCADOR <i>Myotis vivesi</i>	11
2.1.1 Clasificación.....	11
2.1.2 Descripción.....	11
2.1.3 Distribución.....	13
2.1.4 Hábitat.....	13
2.1.5 Alimentación.....	14
2.1.6 Estado de Conservación.....	14
2.1.7 Conocimiento actual de la reproducción de <i>Myotis vivesi</i>	14
III. OBJETIVOS.....	17
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	17
3.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	17
IV. MÉTODOS.....	18
4.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	18
4.2 CAPTURA DE ESPECIMENES.....	20
4.3 REGISTRO DE MEDIDAS.....	21
4.4 PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE LOS ÓRGANOS REPRODUCTORES.....	21
4.5 DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA CUANTITATIVA DEL TESTÍCULO.....	22
4.5.1 Índice Espermatogénico.....	22
4.5.2 Índice de Celularidad del Tejido Intersticial.....	24
4.6 MORFOMETRÍA DEL ESPERMATOZOIDE.....	25
4.7 MORFOMETRÍA DEL BÁCULO.....	25
4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	25
V. RESULTADOS.....	26
5.1 ORGANIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MURCIÉLAGO PESCADOR <i>Myotis vivesi</i>	26
5.2 ORGANIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MURCIÉLAGO PESCADOR <i>Myotis vivesi</i>	30
5.2.1 Descripción cuantitativa de los cambios histológicos del testículo.....	30
5.2.2 Descripción de los cambios histológicos del epidídimo.....	36
5.3 MORFOMETRÍA DEL ESPERMATOZOIDE.....	38
5.4 MORFOMETRÍA DEL BÁCULO.....	39
VI. DISCUSIÓN.....	40
VII. CONCLUSION.....	47
VIII. LITERATURA CITADA.....	49
IX. APENDICES.....	57

Resumen

El murciélago pescador *Myotis vivesi* es una especie endémica de las islas del Golfo de California en el Mar de Cortéz, a la que muy poca atención se ha puesto en su biología reproductora. El objetivo de este trabajo fue describir morfológica e histológicamente el aparato reproductor masculino de *M. vivesi* y para ello se utilizaron 35 individuos adultos, colectados en diferentes épocas del año durante el periodo de 2002 a 2005 en Isla Partida. Los testículos fueron fijados en solución Bouin, se incluyeron en parafina, y se seccionaron en cortes de 7 μm de espesor, para finalmente ser teñidos con la técnica de Hematoxilina-Eosina. Las descripciones histológicas fueron hechas a partir de observaciones en el campo claro del microscopio. Cambios en diferentes parámetros morfométricos de los túbulos seminíferos y conteo de tipos celulares del tejido intersticial y del epitelio seminífero fueron registrados. El aparato reproductor de *M. vivesi* carece de vesícula seminal pero presenta una glándula ampular pareada. La espermatogénesis se lleva cabo de febrero a noviembre; mientras la regresión testicular ocurre en noviembre-diciembre, quedando un corto periodo de inactividad espermatogénica total en enero. Cambios del túbulo seminífero, como el área total del túbulo en plano transversal, el área del lumen tubular y del número de células del epitelio seminífero, ocurrieron en correlación con la actividad espermatogénica. En noviembre el área del lumen alcanza su mayor tamaño y se observó con numerosos espermatozoides, es entonces cuando se lleva a cabo la espermiación. Durante noviembre y diciembre los espermatozoides se encuentran almacenados en la región caudal del epidídimo. El número de células del tejido intersticial incrementó de diciembre a febrero, lo cual sugiere que es el periodo en que ocurren las copulas en la especie. Las medidas registradas para los espermatozoides de *M. vivesi*, indican que tienen una longitud total promedio de 56.6 μm (± 2.91); la cabeza es en forma de espátula, y miden en promedio 4.05 μm (± 0.22) de largo por 1.67 μm (± 0.28) de ancho. El pene presenta un báculo acanalado, localizado en la parte distal, ventral a la uretra. Las medidas registradas para el hueso peniano fueron de 1.06 mm de largo por 0.47 mm de ancho. El patrón reproductor masculino del murciélago pescador se caracteriza por ser estacional, con un ciclo único de actividad de espermatogénesis que al parecer es temporalmente asincrónico con respecto a las funciones sexuales secundarias, patrón que se presenta en un grupo de murciélagos vespertiliónidos que habitan en zonas templadas.

Abstract

The Mexican fishing-bat *Myotis vivesi* is an endangered endemic species, however very little attention has been paid to the study of its reproductive biology. We made morphological and histological descriptions of male reproductive organs in 35 individuals collected in different time of the year during 2002 to 2005 in Partida Island in the Sea of Cortéz. Testes were obtained and fixated in Bouin, embedded in paraffin wax and serial section were cut at 7 μ m and stained with H-E. Histological descriptions were made with observations in bright field microscope. Principle morphometry changes of the seminiferous tubule, interstitial tissue, counting of the cells of seminiferous tubule are registered. *M. vivesi* lacks of seminal vesicle but presents a paired ampullary glands. Spermatogenesis occurred from February to October, with regression on November, and a period of inactivity during December. Changes in seminiferous tubule (total area of seminiferous tubule, lumen and seminiferous epithelium) occurred in correlation with the spermatogenic activity. Spermiation, when the sperm are delivered of Sertoli cell occurred when the area of tubular lumen was enlarged and filled with spermatozoa, in November. Sperm were stored; the cauda epididymis was engorged with sperm in November and December. During December/February had increased the number interstitial tissue cells, and accessory sex glands were enlarged too. The last data suggests that copulation would be occurring at this time of the year. Spermatozoon of *Myotis vivesi* had a characteristic spatula shape had a total length of $56.6 \pm 2.91 \mu\text{m}$, and it was $4.05 \pm 0.22 \mu\text{m}$ length and $1.67 \pm 0.28 \mu\text{m}$ width. The penis had a grooved baculum located at the dorsal part of distal extreme of the urethra. This os penis was 1.06 mm length and 0.47 mm width. The reproductive cycle of the fishing-bat apparently involves asynchrony between primary and secondary sexual functions, which is typical of temperate-zone vespertilionids.

Descripción Morfológica e Histológica del Aparato Reproductor Masculino del Murciélago Pescador *Myotis vivesi* (Chiroptera: Vespertilionidae)

I. INTRODUCCIÓN

Los patrones reproductores entre los murciélagos son muy variables (Wimsatt, 1969; Krishna, 1985; Crichton y Krutzsch, 2000) y se pueden clasificar como monoéstrico y poliéstrico. En los monoéstricos solo ocurre un ciclo reproductor al año (Crichton y Krutzsch, 2000). En los patrones poliéstricos pueden ocurrir varios ciclos reproductores al año y se pueden presentar dos modalidades, continuo o bimodal, este último se caracteriza por presentar un estro postparto (Fleming, 1973). La mayoría son regulados principalmente por factores externos tales como la luz, temperatura, humedad y la disponibilidad de alimento (Neuwailler, 2000).

El patrón poliéstrico sucede en especies que habitan en zonas tropicales, principalmente en las especies de frugívoros de la familia Phyllostomidae. En cambio el patrón monoéstrico es típico de especies que habitan en latitudes templadas y se manifiestan frecuentemente en murciélagos que pertenecen a la familia Vespertilionidae, cuya principal fuente alimentaria es a base de insectos (Fleming, 1973).

En varias especies de murciélagos vespertilionidos, es común que entren en un estado de torpor durante el invierno, lo que da como resultado, que el apareamiento se lleva a cabo durante el otoño, y las crías nacen en la siguiente primavera (Gustafson, 1979). Sin embargo, en otras especies, es común, que su periodo de reproducción se traslape con el invierno. Cuando esto ocurre los murciélagos cuentan con diversas estrategias para este problema como: la implantación retardada donde la fecundación es normal ocurriendo una serie de segmentaciones cigóticas precoces, que luego se detienen cuando el embrión alcanza la etapa de blastocisto y

se queda en estado de latencia dentro del útero por periodos de 12 días hasta 11 meses dependiendo de la especie. En este caso los machos llevan a cabo la espermatogénesis durante el verano y el apareamiento y la fecundación ocurren en septiembre (Wimsatt, 1969; Vaughan, 1988).

Otro tipo de postergamiento es la fertilización retardada, cuando hay un retraso en la ovulación y la fecundación se lleva a cabo mucho tiempo después de la cópula. Este tipo de estrategia ha sido reportada sobre todo en algunos vespertiliónidos. En estas especies, los testículos descienden al escroto durante la primavera, entonces la gametogénesis comienza y a su vez el aumento de tamaño de los testículos, alcanzando el mayor tamaño a finales del verano. Luego los testículos entran en regresión y la espermatogénesis termina antes del invierno, aunque en la región caudal de los epidídimos se conservan espermatozoides durante largo tiempo y las glándulas sexuales accesorias permanecen hipertróficas durante el invierno y por lo tanto hacen posible que la cópula se lleve a cabo con éxito. En las hembras se desarrolla un folículo durante el otoño y se mantiene en el invierno. De esta forma dependiendo de la especie las cópulas se pueden llevar a cabo a finales del otoño (comúnmente en noviembre) o durante el invierno. En la mayoría de los vespertiliónidos con este tipo particular de reproducción las cópulas se dan antes del invierno (Wimsatt, 1945; Vaughan, 1988).

En otras especies ocurre un almacenamiento espermático, de manera que es depositado el esperma en el tracto reproductor de la hembra durante la cópula de otoño y se conserva ahí hasta que ocurre la ovulación ya sea a finales del invierno o a principios de la primavera cuando ocurra la fecundación (Wimsatt, 1945; Vaughan, 1988). Sin embargo, esta capacidad de almacenar esperma no es única entre las hembras, sino que también los machos pueden llevar a cabo la retención prolongada de esperma durante el invierno (Gustafson, 1979; 1987). En la mayoría de los casos los espermatozoides son almacenados en el epidídimo y en algunas

ocasiones hay especies que durante el torpor invernal copulan o al terminar este evento pueden también hacerlo (Racey, 1979; 1982).

El almacenamiento espermático es raro entre los mamíferos (Birkhead y Møller, 1993) sin embargo es una estrategia reproductora muy habitual entre los murciélagos. La retención del espermatozoides viable dentro del aparato reproductor tanto de la hembra como del macho por un periodo (aproximadamente de 7 meses), se define como almacenamiento espermático (Neuwailer, 2000). Esta retención de espermatozoides comúnmente ocurre en las hembras donde el ciclo gametogénico no está sincronizado con el de los machos, sin embargo, cabe destacar que esta habilidad no está restringida para la hembra sino también se puede presentar en los machos que son capaces de retener espermatozoides en el epidídimo después de haber cesado la espermatogénesis (Racey, 1979; 1982). La retención de espermatozoides en el tracto reproductor de los murciélagos que habitan en regiones templadas está asociado con estrategias reproductoras, tales como la ovulación y la fertilización postergada, las cuales se han reportado para más de 40 especies de murciélagos (Crichton y Krutzsch, 2000). Las especies conocidas que tienen la capacidad de almacenar espermatozoides pertenecen principalmente a las familias de rinolófidos y vespertiliónidos (Racey, 1979), entre los que se puede mencionar: *Rhinolophus clivosus*, *Pipistrellus subflavus*, *P. minimus*, *P. endoi*, *P. coreensis*, *P. savii*, *P. rusticus* (Crichton y Krutzsch, 2000.) y los pipistrelas de la India *P. ceylonicus* y *P. pipistrellus* (Krishna, 1985).

En el caso de los patrones reproductores de los murciélagos vespertiliónidos que corresponde al género *Myotis* y que habitan en ambientes templados se caracterizan por presentar un ciclo reproductor al año (Gustafson, 1987); por lo tanto, en los machos solo existe un periodo de espermatogénesis que se renueva cada primavera después del torpor invernal. Para ciertas especies se da la existencia de una asincronía entre la función testicular primaria

(gametogénesis) y la actividad sexual secundaria pues las glándulas accesorias reproductoras (próstata y vesícula seminal), alcanzan su mayor tamaño luego de que la espermatogénesis ha terminado y permanecen llenas de secreción durante el invierno y el periodo de apareamiento mientras los testículos entran en regresión antes de que ocurra la cópula. Cuando llega la primavera la actividad testicular comienza de nuevo, y las glándulas accesorias entran en regresión (Gustafson y Remesh 1976; Racey, 1982; Gustafson, 1987). Tal es el caso de *Myotis lucifugus*, *Nyctophilus geoffroyi*, *N. major* y *Vespadelus regulus*, murciélagos vespertiliónidos en los cuales se encontró que tienen un patrón reproductor asincrónico (Hosken et al; 1998).

Además parece que existe una variación dentro del patrón reproductor asincrónico en relación con la actividad de las células de Leydig (Gustafson, 1979; Racey, 1982), puesto que Miller (1939) registra que en *Myotis grisescens* las células de Leydig son grandes durante el verano y entran en regresión en el otoño (el epidídimo esta lleno de espermatozoides hasta el invierno y las glándulas sexuales accesorias están llenas de secreción), son pequeñas durante la primavera. En el caso de *M. lucifugus* las células intersticiales están inactivas durante la primavera.

1.1 APARATO REPRODUCTOR MASCULINO

La anatomía del testículo, de los conductos y glándulas anexas al aparato reproductor de los murciélagos sigue el patrón típico de los mamíferos, sin embargo, la morfología del aparato reproductor masculino en los vespertiliónidos presenta diversas estructuras accesorias para la transferencia, almacenamiento y nutrición de los gametos (Leach, 1961) que pueden ser extremadamente variables en forma, tamaño y número de componentes individuales de las glándulas accesorias que lo conforman (Kruttsch, 1979). Asimismo, la morfología puede variar

según la especie. De esta forma, las glándulas accesorias (vesícula seminal o glándula ampular) pueden estar una excluyendo a la otra o pueden estar ambos tipos presentes (Kruttsch, 1979).

El aparato reproductor masculino en los mamíferos está constituido por los testículos, los cuales están situados en la cavidad abdominal o en las bolsas escrotales dependiendo de la especie. Los testículos están rodeados por una cápsula de tejido conjuntivo llamada túnica albugínea de la cual parten algunas trabéculas las cuales le dan mayor soporte, y conforman los lóbulos, en los cuales se localizan los túbulos seminíferos. En el interior se encuentran el epitelio seminífero, tejido conformado por las células germinales y las células de Sertoli, éstas últimas de gran importancia en el mantenimiento de las células germinales. En los mamíferos estas células forman un epitelio de células alargadas e irregulares, con su base en la membrana basal y su extremo apical hacia la luz del túbulos seminíferos (Vaughan, 1988). Los túbulos seminíferos se rodean de tejido intersticial, que consiste de tejido conjuntivo laxo con vasos sanguíneos, linfáticos y otros tipos celulares entre los que destacan, las células de Leydig por ser secretoras de testosterona. Estas células se localizan aisladas o formando pequeños grupos en el tejido intersticial y son de forma ovoide o irregular. Los túbulos seminíferos terminan en un sistema de conductos llamados túbulos rectos los cuales constituyen la rete testis o red de Haller, los cuales a su vez desembocan en los conductillos eferentes los cuales se vinculan al epidídimo a su vez éste se dirige al conducto deferente que drena a la uretra, y después a una serie de glándulas accesorias (vesículas seminales, próstata y glándula bulbo uretral) y finalmente al pene (Hill y Smith, 1992).

En el macho la glándula accesoria más voluminosa es la próstata, órgano por lo general impar, aunque a veces se encuentra lobulado simétricamente, situado en el punto de partida de la uretra, a la que puede rodear más o menos. La próstata está rodeada por una cápsula de tejido conjuntivo y subdividida en muchos lóbulos mediante septos. En el caso de murciélagos con un

solo ciclo sexual bien marcado como es el caso de *Corynorhinus mexicanus* (León-Galván et al; 2005), la próstata sufre una cierta atrofia durante las estaciones de inactividad reproductora.

La vesícula seminal, en comunicación con el canal deferente, no se utiliza como almacén de espermatozoides. Su función radica en proporcionar una secreción al esperma que le proporciona sustancias nutritivas, protectoras, etc. También existe otro tipo de vesículas como la glándula ampular en algunos mamíferos (insectívoros, roedores, quirópteros) la cual esta formada por el ensanchamiento del conducto deferente y a menudo se encuentra llena de espermatozoides en la época de apareamiento (Leach, 1961).

Dos pequeñas glándulas de tipo túbulo-alveolar llamadas glándulas de Cowper o bulbo-uretrales se abren en la uretra, en la base del cuerpo esponjoso del pene y producen una secreción mucosa cuya función es facilitar el paso de los espermatozoides o también pueden neutralizar los elementos ácidos que se encuentran en la uretra (Leach, 1961). Estas diferencias se pueden observar en descripciones morfológicas que se han hecho en distintas especies como en *Corynorhinus mexicanus*, *Pipistrellus subflavus*, *P. hesmerus*, *P. mimus* (Crichton y Kruttsch, 2000; León-Galván et al; 2005).

1.1 ESPERMATOZOIDE

Por otro lado el espermatozoide también ha sido estudiado en cuanto a su estructura y dimensiones en diferentes especies de murciélagos (Mori, 1995; Gage, 1998). El espermatozoide es el resultado final del proceso de la espermatogénesis, el cual se lleva a cabo dentro de los túbulos seminíferos en los testículos de los mamíferos. Su importancia radica en la participación que tiene en fertilizar el óvulo y así aportar el complemento de cromosomas necesarios para que se inicie la embriogénesis (Schatten, 1988). Las diferencias morfológicas

entre los espermatozoides que pertenecen a los distintos grupos de animales están dadas por las variaciones y características de la célula, así como por la ubicación de algunas de sus estructuras (cabeza, cuello y cola) (Hafez, 1970; Austin, 1976).

De esta forma la morfología del espermatozoide se ha empleado como carácter para ayudar a establecer la sistemática y filogenia de los taxa en los mamíferos (Hamilton, 1949; Forman y Genoways, 1968). Los espermatozoides de los diferentes grupos de animales presentan un patrón general común: a) La cabeza, es un cuerpo celular que contiene al núcleo y en el extremo anterior se diferencia en el acrosoma, una estructura con forma de capuchón, cuya función es degradar las membranas del óvulo, durante la fecundación (Balinsky, 1983); b) El cuello, es una pieza de conexión que une a la cabeza y la cola del espermatozoide (Balinsky, 1983); c) La pieza media, en esta parte se encuentran la base de la cola y alrededor están las mitocondrias que aportan la energía para la propulsión del espermatozoide (Neuweiler, 2000), d) La cola, es la parte más larga y por medio de sus movimientos impulsa el desplazamiento del espermatozoide (Brachet, 1975).

En el caso de los murciélagos se ha observado que existe una diferencia entre géneros; en el tamaño relativo y la forma de la cabeza y el acrosoma, en el arreglo y la simetría de los componentes de la cola o flagelo (Pogany y Linder 1993). Para distinguir entre espermatozoides de especies cercanas o subespecies de un mismo grupo, se han establecido diferencias o similitudes usando las dimensiones de las diversas partes del espermatozoide o de sus elementos constitutivos (Pogany y Linder 1993; Ambriz et al; 2003). Con el análisis de las características morfológicas de los espermatozoides es posible interpretar o aportar información para entender las tendencias evolutivas (Gage, 1998; Craig y Ward 1999) de los grupos de interés. Diversos autores como Hirth (1960), Fawcett e Ito (1965), Wimsatt et al; (1966) y Forman et al; (1968) reportaron varios aspectos de los espermatozoides en murciélagos vespertiliónidos.

Asimismo, es importante mencionar que existen varios trabajos que consideran el tamaño del espermatozoide en relación con algunos otros aspectos de la biología reproductora, como los estudios realizados por Gage (1994) quien registra que hay una relación positiva entre el tamaño del espermatozoide y la competencia espermática entre las especies. Después el mismo Gage (1998) señala que existe una relación del tamaño del espermatozoide con la duración del estro; sin embargo, Hosken (1997) cita que al parecer filogenéticamente el tamaño espermático no está significativamente relacionado con la duración del ciclo estral. Por otro lado, Cummins & Woodwall, (1985) encuentran que se presenta una correlación positiva entre el tamaño del espermatozoide y la masa corporal entre algunas especies del orden Chiroptera, aspecto que Hosken (1997) rechaza.

1.3 BÁCULO

El báculo o hueso peniano, se encuentra en la parte distal del pene, recubre parcial o totalmente a la uretra, y su región proximal está en contacto con la parte terminal del cuerpo cavernoso (Kelly, 2000). Jellison (1945) señala que el báculo es un hueso adicional al resto del esqueleto; por otro lado Ottow (1955) y Nickel y sus colaboradores (1973) mencionan que es el resultado de la calcificación de la parte distal del cuerpo cavernoso.

Acerca del báculo o hueso peniano se registran descripciones de más de 160 especies de murciélagos vespertilionidos en el mundo (Smirnov 2000; Strelkov 1989a; 1989b; Hill y Harrison 1987).

El báculo, entre los mamíferos es morfológicamente diverso en tamaño y forma (Romer 1970). Dentro del orden Chiroptera, sólo algunas especies lo presentan. De acuerdo con Wood-Jones (1917), quien analizó los genitales de 39 especies de murciélago adultos, se pueden encontrar

diferentes rasgos diacríticos entre los megaquirópteros y micro-quirópteros, como por ejemplo la elongación del báculo.

En el suborden Microchiroptera el báculo no se presenta en todos los taxa, como en el caso de las familias Phyllostomidae y Noctilionidae; y es ausente en algunas géneros de las familias, Mormoopidae, Molossidae, Vespertilionidae (Hosken et al; 2001). En el caso de los vespertiliónidos, el báculo se presenta en todos los géneros con excepción de *Miniopterus* (Crichton y Krutzsch 1990a) y *Mimetillus* (Hill y Harrison 1987).

Debido a la diversidad de formas que presenta el báculo, se ha descrito y usado como un carácter para establecer la existencia de posibles relaciones filogenéticas entre las diferentes especies (Hamilton, 1949; Forman y Genoways, 1968; Felten et al; 1977; Albayrak y Asan, 1998, 2001). Se asume que la diversidad de formas del báculo es causada por la selección sexual (Arnqvist, 1998) y se ha empleado como carácter taxonómico para diferenciar especies por ejemplo entre los géneros *Plecotus*, *Barbastella*, y *Myotis* (subgénero *Selysius*), las cuales pueden ser muy similares (Smirnov, 2003; Strelkov, 1989a, 1989b).

Por su parte, Felten et al., (1977) hicieron comparaciones entre la forma y tamaño de báculos de *Myotis myotis* y *M. blythi* de Europa y señalan que el tamaño y la forma pueden utilizarse como caracteres diagnósticos. En contraste con lo anterior, Albayrak y Asan (2001), encuentran que sólo la forma le permite distinguir entre *M. myotis* y *M. blythi* . Por otro lado, Hosken et al., (1998) describe una correlación positiva entre el tamaño del báculo y dos características que miden la intensidad de la selección sexual, el volumen del testículo y el sistema de apareamiento, que en el caso de los murciélagos ambos factores son controlados por los efectos del tamaño corporal. Sin embargo, observando además que cambiaba consistentemente entre las especies incluso cuando había poca variación en la morfología de las mismas.

Aunque la explicación funcional del báculo es aún poco clara, existen diferentes hipótesis acerca del papel que puede desempeñar esta estructura esquelética, como la de estimular el cérvix de la hembra y así facilitar el paso de los espermatozoides hacia el útero durante la inseminación (Ewer, 1973); inducir la ovulación (Greewald, 1956); o bien, dando mayor rigidez al pene durante la erección y favoreciendo la intromisión (Long y Franck, 1968).

II. ANTECEDENTES

2.1 EL MURCIÉLAGO PESCADOR *Myotis vivesi*

2.1.1 Clasificación

El murciélago pescador *Myotis vivesi* Menegaux 1901, pertenece al orden Chiroptera, Suborden Microchiroptera, familia Vespertilionidae, subfamilia Vespertilioninae, género *Myotis*, subgénero *Pizonyx*.

2.1.2 Descripción

El murciélago pescador es la especie más grande dentro del género *Myotis* en el nuevo mundo, mide 145 mm de longitud total y tiene un peso de 27.5 g. La coloración del pelaje varia de café oscuro a negro y a diferencia de los otros murciélagos de su género éste tiene el pelaje ventral de color blanquecino (Maya, 1968) (Fig. 1).

El rostro tiende a una forma triangular (Villa y Cervantes, 2002). Las orejas (± 20 mm) están desnudas, tienen 8 dobleces en cada oreja que van de la base hasta casi la punta de la oreja. El trago es alargado y la punta es ovalada en la base los márgenes del trago son aserrados (Miller y Allen, 1928).

La fórmula dental varia de $i\ 0/1, 2/2$ ó $3/3; c\ 1/1; p\ 3/3, m\ 3/3$ total de 30-40 dientes (Reeder 1953; Ávila y Medellín 2006). Los incisivos son típicos de cualquier *Myotis*; sin embargo los caninos y los premolares tienen cúspides que son más altas y delgadas. Además el primer y segundo premolares están elevados, y el segundo cede al primero en altura, características que

no existen en otra especie del género *Myotis* de Norte América; el tercer molar no está reducido (Miller y Allen, 1928).

Las alas no presentan pelo y el pulgar tiene una uña que esta aplanada dorsoventralmente; el plagiopatagio se extiende hasta la tibia; la cola (70 mm) esta embebida en el uropatagio y queda libre solo la punta de la cola. El uropatagio esta cubierto por escaso pelo, el cual es corto, y se encuentra desde la parte mediadorsal hacia la punta (Miller y Allen, 1928; Blood, 1987). Las patas son grandes en relación al cuerpo (23 mm). La pata incluyendo las uñas es igual en longitud a la tibia (24 mm), las uñas están aplanadas dorsoventralmente al igual que el pulgar (Blood, 1987; Fish et al.; 1991).



Figura 1. Fotografía de un individuo adulto *Myotis vivesi*.

2.1.3 Distribución

Se encuentra distribuido principalmente en islas e islotes a lo largo del Golfo de California desde Isla San Jorge hasta Isla Cayo, encontrándose registros del lado del Océano pacífico en Bahía Tortuga y en Bahía Sebastián Vizcaíno, así como en las franjas costeras en ambos lados del Golfo de California o Mar de Cortés, que corresponden a los territorios de la península de Baja California y Sonora (Reeder y Norris, 1954; Patton y Findley, 1970; Villa, 1979; Blood y Clark 1998).

2.1.4 Hábitat

El murciélago se encuentra en refugios protegidos (Kunz, 1982), es decir, bajo rocas, grietas y en las oquedades naturales formadas entre ellas (Maya, 1968). Los refugios son pequeños y cuentan con hendiduras de acceso las cuales dependen de las dimensiones y forma de las rocas que se encuentran en el sitio. Este tipo de refugio lo protege contra las extremas oscilaciones ambientales y contra sus depredadores naturales, que pueden ser: la rata noruega *Rattus norvegicus*, la gaviota occidental *Larus occidentalis livens*, la gaviota de pico amarillo *Larus delawerensis*, el cuervo común *Corvus corax*, el halcón peregrino *Falco peregrinus*, el águila pescadora *Pandion heliaetus* y la lechuza de campanario *Tyto alba* (Villa, 1979).

Los refugios son ocupados por temporadas largas pero no son definitivos ya que al parecer existe una rotación continua hacia zonas adyacentes. Casi siempre se le encuentra compartiendo refugio con los petreles *Oceanodroma melania* y *Oceanodroma microsoma* (Burt, 1932 ; Maya, 1968).

2.1.5 Alimentación

Se alimenta principalmente de crustáceos y peces pequeños como las sardinas *Sardinops caerulea*, *Lile stolifera*, *Ophistonema liboleta*; aunque también se han encontrado restos de algas e insectos en contenidos estomacales (Maya, 1968)

2.1.6 Estado de Conservación

Según la NOM-ECOL-059-2001 se enlista como especie en peligro de extinción. Actualmente estudios de tamaño poblacional realizados por Flores-Martínez et al; (2004) mencionan que la población de murciélagos en Isla Partida tiene un alto nivel de diversidad genética así como un alto tamaño efectivo de la población, lo que refleja que esta población en particular se encuentra lejos de una posible extinción local, por lo cual el murciélago pescador no está en un inmediato peligro de extinción como lo registró Maya (1968).

2.1.7 Conocimiento actual de la reproducción de *Myotis vivesi*

De los aspectos reproductores de *M. vivesi* solo existe un trabajo que fue escrito por Maya (1968), el cual reporta que esta especie presenta un patrón monoéstrico estacional en el cual, las hembras presentan el periodo de ovulación del 21 de febrero hasta el 10 de marzo. La gestación de esta especie es de 55-65 días y los nacimientos ocurren desde la segunda semana de mayo, hasta la primera semana de junio. Esta especie empieza a formar pequeños grupos de maternidad a partir de marzo, los grupos se conforman de 2, 3, y 5 animales en un refugio, siendo los más comunes, de 8 hembras fue el grupo más grande encontrado. Aunque

los machos tienden a estar solos, ocasionalmente se encuentra un macho con el grupo de hembras; sin embargo los machos casi siempre se encontraron aislados durante la temporada de maternidad.

Por otro lado Maya (1968) registró, que en machos adultos, el tamaño de los testículos es menor en el mes de enero e incrementan su tamaño a partir de febrero hasta junio. El descenso testicular es a finales de junio. El tamaño continua aumentando de julio a octubre; durante este mes alcanza el mayor tamaño, sin embargo no hay evidencias de inseminación y posteriormente los testículos entran en una regresión gradual, con degradación de esperma; Maya (1968) sugiere que la inseminación ocurre desde finales de julio hasta noviembre (Figura 2).

Maya (1968) también hace cortes de tejido testicular, encontrando en las siguientes fechas, del año 1963, los diferentes estadios de espermatogénesis: el 27 de febrero encuentra espermatogonias, el 11 de abril espermatocitos primarios, el 17 de junio espermatocitos primarios dividiéndose. Los espermatozoides maduros los encontró a finales de julio hasta septiembre y el 13 de octubre la degradación de espermatozoides (Figura 2).

Por otro lado Hamilton (1949) hace una descripción de báculos de diferentes especies de la familia Vespertilionidae, y menciona que particularmente en los murciélagos que pertenecen al género *Myotis*, presentan un báculo con un aspecto parecido a una silla de montar, forma muy característica dentro del género. Sin embargo, en la descripción que el autor hace del báculo de *Myotis vivesi* menciona que no tiene la apariencia de una silla de montar, sino que la parte distal termina afilándose hasta alisarse ligeramente elevándose hasta la punta, el aspecto dorsal se inclina ligeramente hacia arriba, la base es aproximadamente tres veces más profunda que la

parte mas estrecha; la superficie ventral es aplanada y tiene márgenes laterales que forman abruptamente como un tipo de canal, por lo que es distinto de los demás miembros del género. Sin embargo, existe un parecido en la forma del báculo de *M. grisescens* con el de *M. vivesi*. En la actualidad, no existen registros de las medidas del báculo de esta especie.

Debido a la escasa información que existe acerca de la reproducción de *M. vivesi* este trabajo tiene la intención de ampliar este conocimiento para poder entender y precisar las adaptaciones reproductoras que presenta el murciélago pescador que habita en zonas templadas, por lo tanto es importante describir los cambios morfológicos que presenta el aparato reproductor masculino, así como también los cambios histológicos que se presentan en el testículo y epidídimo del murciélago pescador.

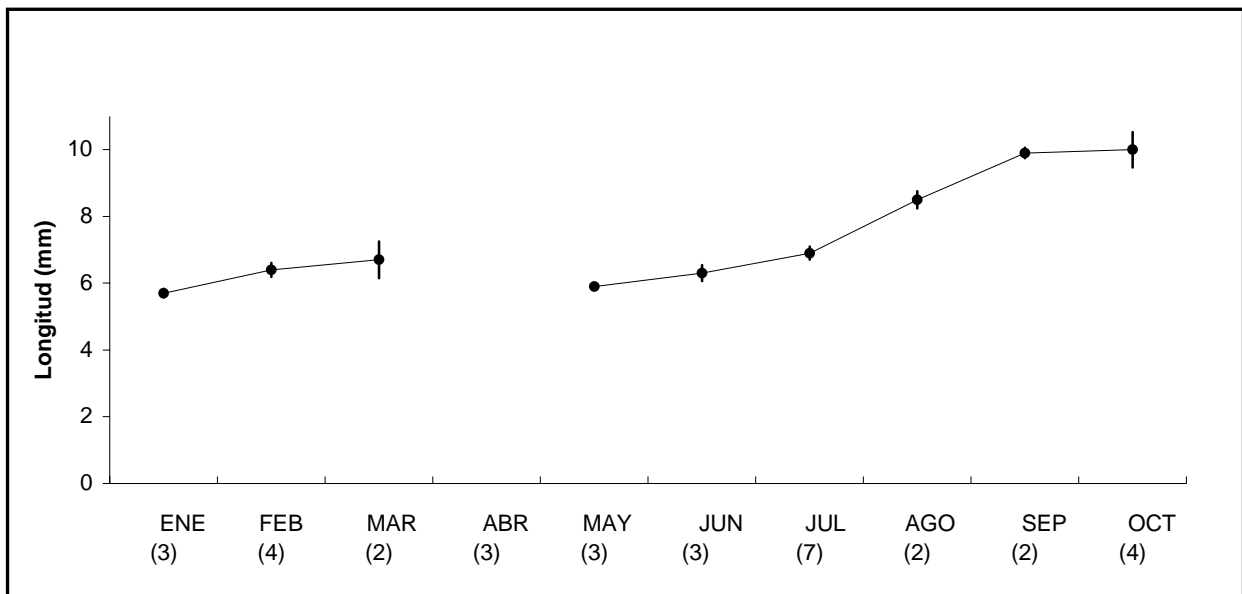


Figura 2. Variación mensual del tamaño testicular del murciélago pescador *M. vivesi* elaborado a partir de los datos anotados por Maya (1968), no hay datos registrados para abril, noviembre y diciembre. Los puntos indican el valor promedio (\pm d.e.) de la longitud del testículo medido. El número entre paréntesis representa la cantidad de murciélagos estudiados por mes.

III. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Caracterizar el patrón reproductor masculino del murciélago *Myotis vivesi* con base a la descripción anatómica e histológica de su tracto genital.

3.2 OBJETIVOS PARTICULARES

1. Obtener información somática y reproductora general de individuos adultos capturados a lo largo del ciclo anual en refugios naturales (o en campo).
2. Realizar la descripción de la anatomía gruesa de los principales órganos reproductores (testículo, epidídimo, glándulas sexuales accesorias).
3. Describir la organización histológica del testículo y epidídimo, y los principales cambios que ocurren a lo largo del ciclo anual.
4. Describir morfométricamente a los espermatozoides y el báculo para la especie.

IV. MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

La colecta de ejemplares de *M. vivesi* se realizó en Isla Partida (28° 52' N y 113°02' O), en el Golfo de California, México, (Figura 3). Esta isla tiene una longitud de 2.2 km por 900 m de ancho, su superficie aproximada es de 1.2 km². La isla cuenta con dos macizos montañosos que se elevan hasta los 121 msnm, y sus costas son acantilados (Lopez-Forment et al; 1996).

El clima del área es seco, cálido, con régimen de lluvias en verano, BW (h') hw (x'), (García, 1987). Esta isla es de origen volcánico, el suelo es de tipo sedimentario y tiene una topografía accidentada (Villa y Cervantes, 2002). La vegetación es de matorral desértico espinoso con cactáceas (Rzedowsky 1986), donde predominan los cardones, *Pachycereus pringlei*, y numerosos tipos de leguminosas y arbustos tales como, *Amaranthus watsonii*, *Perityle emoryi*, *Cryptantha maritima pilosa*, *Laphocereus schottii*, *Opuntia* cf. *burrageana*, *Atriplex barclayama*, *Vaseyanthus insularis*, *Cuscuta corymbosa*, *Euphorbia* sp., *Phaseolus philiformis*, *Datura discolor*, *Nicotiana obtusifolia*, *Viscatinoa geniculata geniculata*, y *Bouteloua aristidoides* (Cody et al; 2002). En este sitio solo existe un mamífero, el murciélago pescador, el cual se refugia entre las oquedades que forman las rocas o debajo de ellas (Maya, 1968). También se encuentran algunas aves como los petreles *Oceanodroma melania* y *Oceanodroma microsoma*, la gaviota occidental *Larus occidentalis livens*, la gaviota de pico amarillo *Larus delawerensis*, el cuervo común *Corvus corax*, el halcón peregrino *Falco peregrinus*, el águila pescadora *Pandion heliaetus* y la lechuza de campanario *Tyto alba* (Villa, 1979).

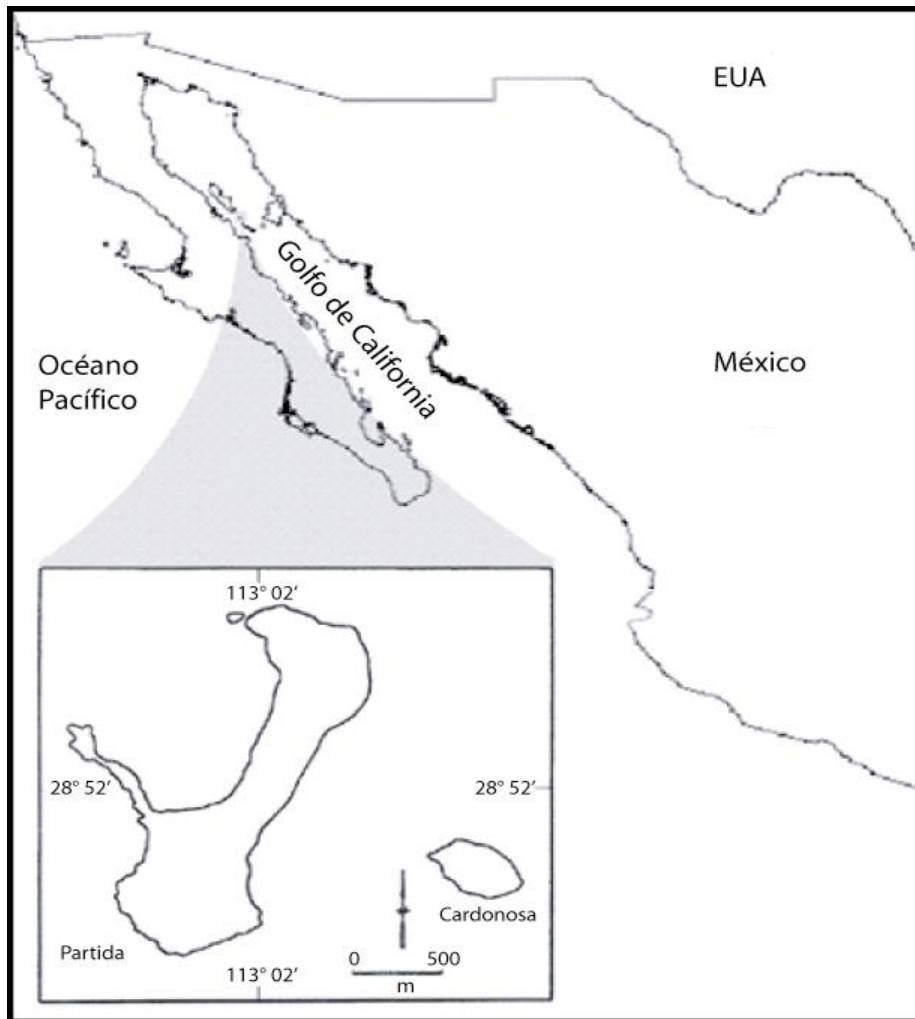


Figura 1. Ubicación geográfica de Isla Partida sitio donde se capturaron los murciélago de *M. vivesi* empleados para este estudio (tomado de Flores-Martínez et al; 2004)

4.2 CAPTURA DE ESPECIMENES

La obtención de los murciélagos se realizó durante el periodo comprendido de diciembre del 2002 a abril del 2005 cubriendo poco más de 3 ciclos anuales, Dentro de este periodo se realizaron 13 colectas (Tabla 1).

Tabla 1. Ejemplares colectados de *M. vivesi*.

No. Colecta	Fecha	No. Ejemplares
1	02-Dic-02	3
2	10-Ene-03	1
3	24-Feb-03	1
4	26-May-03	3
5	22-Ago-03	3
6	27-Nov-03	3
7	24-Jun-04	3
8	15-Sep-04	3
9	20-Oct-04	3
10	21-Dic-04	4
11	18-Ene-05	3
12	29-Feb-05	3
13	11-Abr-05	2

En cada visita se capturaron diversos murciélagos, siguiendo 2 métodos; uno de ellos accedendo directamente a los refugios que se localizaban entre las oquedades de las rocas durante el día y el otro por medio de redes de niebla de 2X12 m, colocadas en áreas cercanas a los refugios en el atardecer.

4.3 REGISTRO DE MEDIDAS

Una vez capturados, los murciélagos fueron sexados, de 1-3 machos con características de adultos fueron separados y los demás murciélagos puestos en libertad en cada visita. Se registraron sus medidas somáticas generales peso corporal y longitud del antebrazo (Apéndice 1) por medio de un vernier digital Mitutoyo Mod. CD-6"CS con precisión de 0.01mm y el peso con una pesola marca Pesola Mod. 20,100.

Se utilizó un individuo macho adulto colectado en enero de 2005, el cual, se conservó en alcohol al 70% para después ser llevado al laboratorio y hacer la descripción morfológica del aparato reproductor. Los demás especímenes fueron anestesiados con éter y sacrificados para obtener los aparatos reproductores. Para evitar la disgregación de los tejidos, las medidas de los aparatos reproductores se tomaron desde su posición anatómica original por medio de un vernier digital Mitutoyo Mod. CD-6"CS con precisión de 0.01mm. Se registraron las siguientes medidas: longitud mayor (LMT), y longitud menor (LmT) de cada testículo y longitud total de epidídimo (LE; apéndice 1 y 2).

4.4 PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DE LOS ÓRGANOS REPRODUCTORES

Los aparatos reproductores fueron lavados en suero fisiológico, y luego se eliminó el tejido adiposo extra, se separaron el testículo con el epidídimo para posteriormente fijarlos por 12 hrs con solución de Bouin-Duboscq (Apéndice 3). Al término de la fijación fueron sometidos a cambios graduales de etanol al 30%, 50% y 70% por 30 min cada uno dejándolos en el último cambio para después ser transportados al laboratorio.

Una vez en el laboratorio, el testículo y el epidídimo derecho fueron incluidos (Apéndice 4) en paraplast-plus y se realizaron cortes seriados (Apéndice 5) longitudinales a un grosor de 7 μ m con un microtomo de rotación. Finalmente las secciones histológicas fueron teñidas con Hematoxilina y Eosina (Apéndice 6) para su observación al microscopio en campo claro.

4.5 DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA CUANTITATIVA DEL TESTÍCULO

A partir de la sección histológica representativa del plano sagital del testículo, el corte fue dividido arbitrariamente en partes como se indica en la figura 4 y de cada parte o cuadrante se tomaron fotografías, a una magnificación de 400 aumentos, en el Microscopio Leica DC100. De cada fotografía, se eligió un túbulo seminífero cuya figura representara el corte transversal (figura redonda); para medir su luz tubular, el área del epitelio seminífero se calculó de forma indirecta, es decir, restando el área de la luz del área total del túbulo seminífero como se indica en la figura 5, las medidas testiculares fueron realizadas con el programa de análisis de imagen IM1000 Leica.

4.5.1 Índice Espermatogénico

De cada túbulo seminífero medido se procedió a contar las células germinales presentes (espermatogonias, células de Sertoli, espermatocitos, espermatidas y espermatozoides). Con los conteos celulares se obtuvo el índice espermatogénico (Grocock y Clarke, 1974), el cual fue desarrollado para roedores, para estimar el desarrollo de la actividad espermatogénica del testículo. Este procedimiento clasifica en diferentes etapas a la espermatogénesis (Tabla 2) dependiendo de las células germinales presentes y fue adaptado para este estudio en murciélagos. Este índice asigna valores que oscilan entre 0

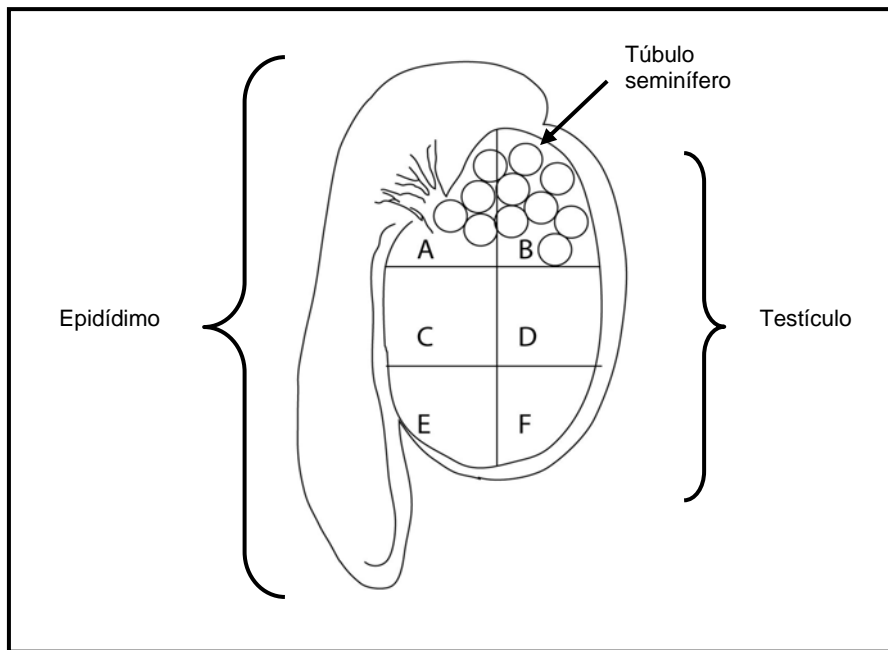


Figura 2. Vista sagital del testículo y epidídimo de *M. vivax* de cada cuadrante (A, B, C, D, E y F), se tomó una fotografía y de ésta se seleccionó un tubo seminífero, en vista transversal para el análisis. Los túbulos seminíferos están representados en figuras redondas O.

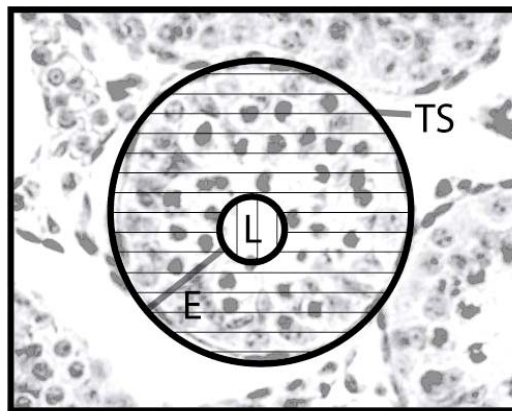


Figura 5. Imagen donde se observar un tubo seminífero y la forma en la que se realizaron las diferentes mediciones: un tubo seminífero redondo (TS) se considera el área total del tubo seminífero (AT); el área del lúmen (L) y el epitelio seminífero (E) se obtuvo en base a la diferencia de AT y L.

y 5, indica la etapa de la espermatogénesis estableciendo valores del 1-4. El valor de 5 fue dado a la presencia de túbulos grandes con espermatozoides y espermatogonias indicado la etapa de involución, mientras que la etapa inactiva se indica con 0 en la cual, se observa la presencia de túbulos seminíferos pequeños que contienen solamente células de Sertoli y espermatogonias.

Tabla 2. Índice Espermatogénico de acuerdo con Grocock y Clarke (1974).

Índice	Etapa de la espermatogénesis	Tipos de células germinales observadas en el epitelio seminífero
0	Inactivo	Espermatogonias
1	Proliferativa	Espermatocitos
2	Meiótica	Espermatocitos y espermátidas redondas
3	Espermatogénesis	Espermátidas elongadas y espermatozoides
4	Espermiación	Espermatozoides
5	Involución	Espermatozoides y espermatogonias

4.5.2 Índice de Celularidad del Tejido Intersticial

Este índice es una valoración del estado del tejido intersticial y se basó en el Índice desarrollado por Grocock y Clarke (1974), elaborado para roedores, con modificaciones particulares para este estudio en murciélagos. Básicamente se fundamentó en la cuantificación de las células presentes en los parches intersticiales que se encuentran entre los túbulos seminíferos. A cada una de las fotografías tomadas por región o cuadrante (A, B, C, D, E, F; fig 4), del testículo se les midió el área total de la foto y se contaron las células intersticiales presentes en toda la imagen para posteriormente calcular el número de células intersticiales presentes en 1mm² de tejido testicular.

4.6 MORFOMETRÍA DEL ESPERMATOZOIDE

De los murciélagos capturados en febrero del 2005 se utilizaron los epidídimos y conductos deferentes para obtener espermatozoides maduros. El conducto fue cortado en varios segmentos y se realizó una suave agitación para permitir la salida de los espermatozoides. Con la solución se realizaron frotis en portaobjetos, los cuales se fijaron con una solución alcohol-éter (1:1) y se tiñeron con la técnica de Tinción de Papanicolaou Simplificada para Espermatozoides (Apéndice 7). Posteriormente se observaron al microscopio en campo claro y se tomaron fotografías de 59 espermatozoides morfológicamente bien conservados, a los cuales se les midió: a) longitud total del espermatozoide; b) largo y ancho de la cabeza; c) largo del cuello y c) largo del flagelo, con el programa de medición Leica IM1000.

4.7 MORFOMETRÍA DEL BÁCULO

Los penes de los individuos colectados en mayo del 2003 fueron disecados y procesados por la técnica de transparentación y tinción de hueso con Rojo S de Alizarina (Apéndice 8). Posteriormente el hueso peniano disecado y teñido se montó en un portaobjetos para obtener en el campo claro del microscopio las medidas del largo y ancho del báculo la cuales se tomaron con ayuda del programa de medición Leica IM1000.

4.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Todos los datos obtenidos para los murciélagos capturados para el mismo mes del ciclo anual fueron agrupados y comparados mediante la prueba de ANOVA, las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0.05$. Los análisis fueron realizados usando el programa Stata 7.0 (Statacorp, 2001).

V. RESULTADOS

En total se capturaron 35 murciélagos machos adultos de la especie *Myotis vivesi* en Isla Partida, cuyo peso corporal promedio fue de $26.98 \text{ g} \pm 5.43 \text{ d.e.}$ y la longitud del antebrazo fue de $60.16 \text{ mm} \pm 2.45 \text{ d.e.}$

5.1 ORGANIZACIÓN MORFOLÓGICA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MURCIÉLAGO PESCADOR *Myotis vivesi*

Los testículos en los individuos adultos son ovoides y se encuentran en el escroto ubicados lateralmente al pene (figura 6), éstos se encuentran envueltos en la túnica vaginalis, la cual esta pigmentada de color negro. Los testículos durante la temporada inactiva de la espermatogénesis (diciembre y enero) casi no se perciben externamente, pero comienzan a incrementar su tamaño paulatinamente a partir de febrero, cuando reinicia la espermatogénesis. El periodo de mayor desarrollo testicular se observa de septiembre a noviembre (fig. 7 A y B).

Las partes del epidídimo que corresponden a la cabeza y parte del cuerpo se ubican lateralmente al testículo. La parte que corresponde a la cola del epidídimo, se extiende hasta el uropatagio, ubicándose a los lados de la cola vertebral (fig. 6) y al igual que el testículo también se encuentra envueltas dentro la túnica vaginalis que esta pigmentada de color negro. El tamaño del epidídimo presentó un incrementó en su longitud total a partir de agosto y continuo hasta alcanzar diciembre, enero y febrero, disminuyó desde abril hasta junio (fig. 8).

Al quitar la túnica vaginalis se puede observar un tubo contorneado que corresponde al conducto deferente, que recorre desde la cola del epidídimo y el cual se va engrosando a lo

largo del epidídimo hasta llegar al testículo de ahí se separa y se une directamente a las glándulas ampulares ya que carece de vesícula seminal (fig. 6).

Las glándulas ampulares son pareadas tienen una forma túbulo-alveolar, están situadas detrás de la vejiga urinaria, se encuentran distendidas y llenas de secreción de diciembre a febrero. La próstata tiene forma de embudo, bilobulada y esta ubicada detrás de las glándulas ampulares, se extiende rodeando desde la parte dorsal, hacia la base de la región media ventral de la vejiga urinaria, formando dos lóbulos más cortos, que superficialmente parecen una estructura, pero éstos solo se encuentran unidos por tejido conectivo (fig. 6). En estado inactivo, las glándulas sexuales son muy pequeñas pero después de que paso la espermatogénesis, éstas aumentan su tamaño considerablemente (diciembre a febrero).

Las glándulas de Cowper, son pareadas, y se encuentran ubicadas en la base del pene (una de cada lado) tienen una forma lanceolada (fig. 6). El pene, se caracteriza por presentar un báculo en la parte distal. Para los murciélagos capturados durante enero y febrero, el pene, se encontró dilatado y rojizo; lo cual puede estar relacionado con la actividad copulatoria que se presenta en este periodo.

Se observó un incremento paulatino en la cantidad de grasa acumulada en la región ventral del animal y sobre todo alrededor de los órganos reproductores en los ejemplares de septiembre a noviembre.

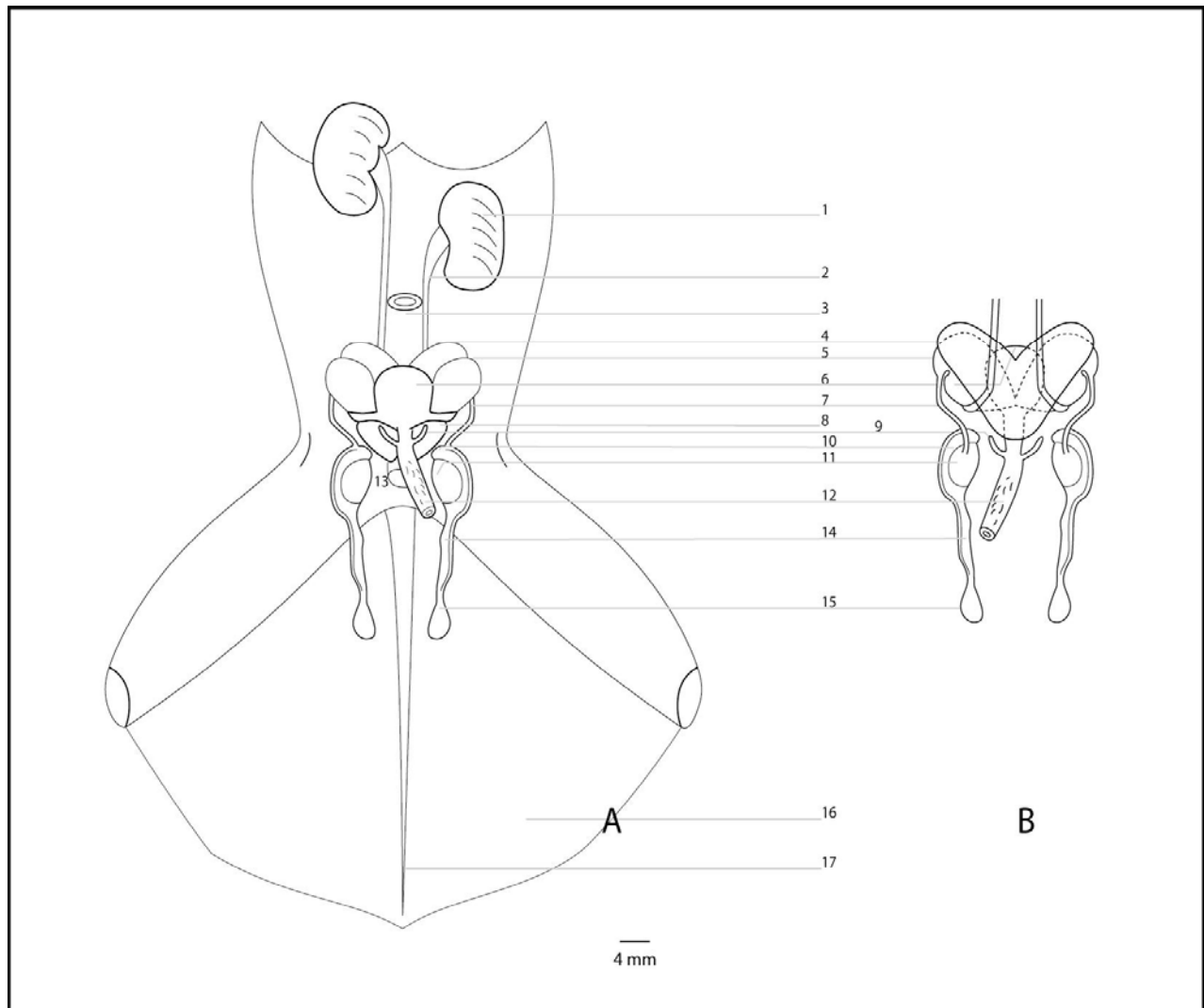


Figura 1. Esquema del aparato reproductor masculino de *Myotis vivesi*, vista ventral (A) y dorsal (B). La ilustración se hizo a partir de un ejemplar capturado en el mes de enero durante la época de apareamiento. Riñón (1), uréter (2), colon (3), próstata (4), glándula ampular (5), vejiga urinaria (6), conducto deferente (7), lóbulos ventrales de la próstata (8), glándulas de Cowper (9), cabeza del epidídimo (10), testículo (11), pene (12), ano (13), cuerpo del epidídimo (14), cola del epidídimo (15), uropatagio (16) y cola vertebral (17).

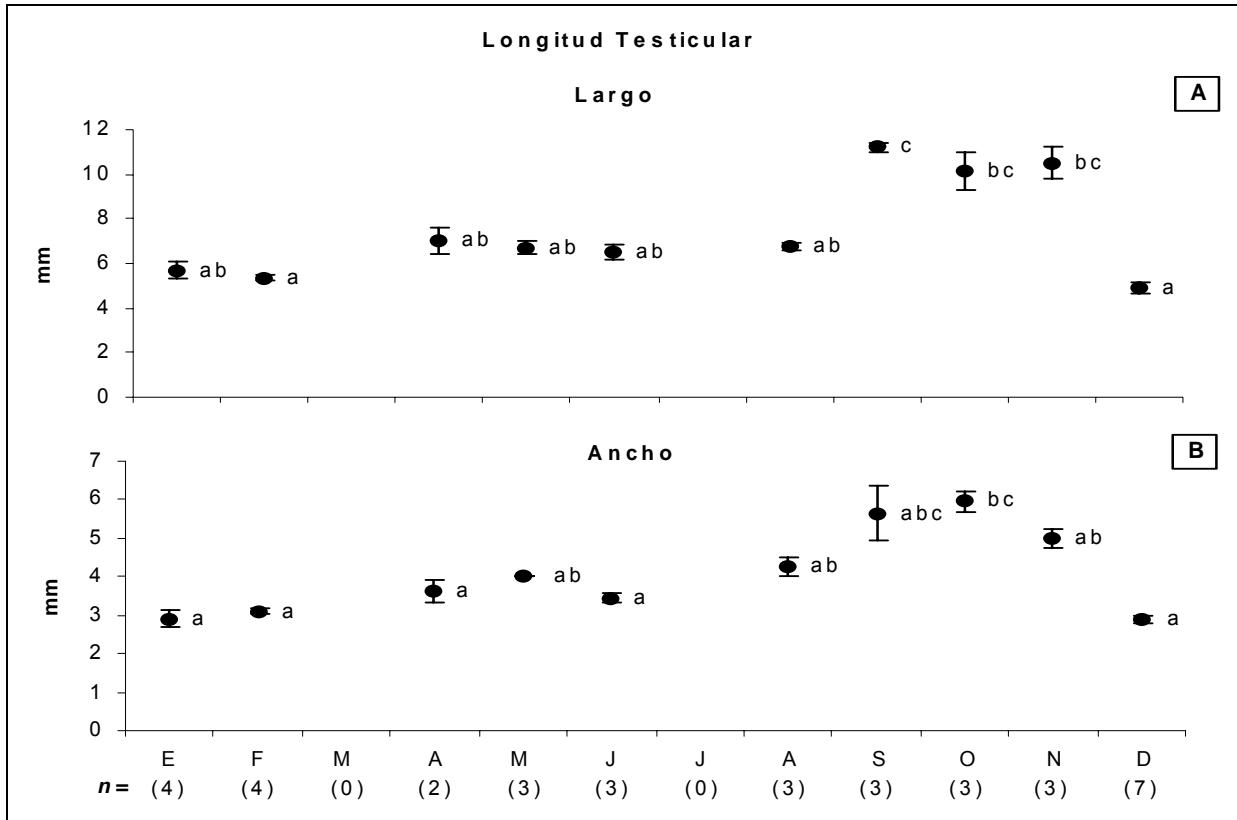


Figura 7. Variación mensual de la longitud testicular de individuos adultos de *M. vivesi*. Los puntos indican mediana (\pm e.e.) de la longitud del testículo medido. El número entre paréntesis representa la cantidad de murciélagos estudiados por mes. Las letras indican las diferencias significativas (ANDEVA, Kruskal-Wallis, Man-Whitney, $\alpha < 0.05$) cuando los datos fueron comparados mensualmente.

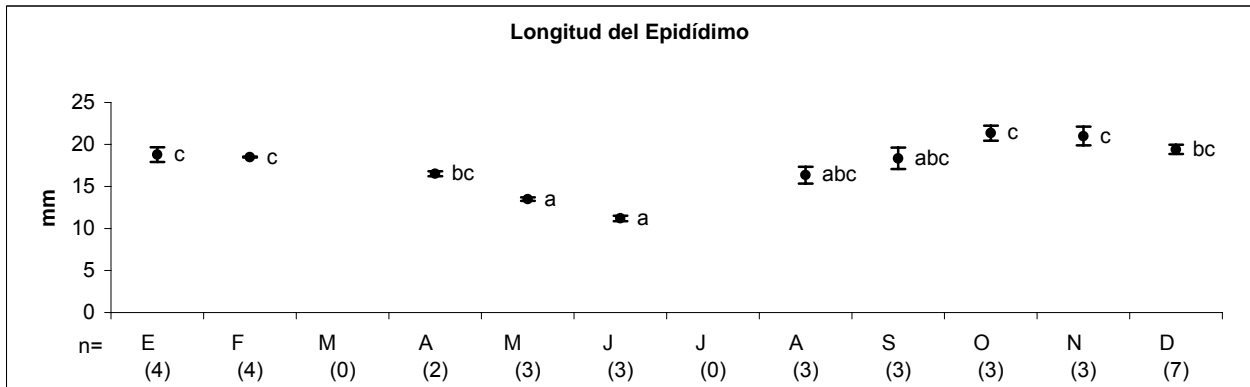


Figura 8. Variación mensual de la longitud del epidídimo de individuos adultos de *M. vivesi*. Los puntos indican la mediana (\pm e.e.) de la longitud del epidídimo medido. El número entre paréntesis representa la cantidad de murciélagos estudiados por mes. Las letras indican las diferencias significativas (ANDEVA, Kruskal-Wallis, Man-Whitney, $\alpha < 0.05$) cuando los datos fueron comparados mensualmente.

5.2 ORGANIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL APARATO REPRODUCTOR DEL MURCIÉLAGO PESCADOR *Myotis vivesi*

5.2.1 Descripción cuantitativa de los cambios histológicos del testículo

Con la revisión al microscopio de las secciones histológicas del testículo se observó que la mediana del área del lumen tubular (**ALT**) fue de $524 \mu\text{m}^2$ en promedio (fig. 9); la espermatogénesis es activa de febrero hasta noviembre.

En el mes de enero se observa que los túbulos seminíferos presentaron del área total del túbulo seminífero (**AT**) de $2209 \mu\text{m}^2$ en promedio; y de esta, el epitelio seminífero ocupó un área (**AE**) de $1725 \mu\text{m}^2$ en promedio. El epitelio seminífero estuvo conformado principalmente de espermatogonias (fig. 10 y 11), las cuales estaban dispuestas junto a la lámina basal, y por células de Sertoli, cuyos núcleos se observaron desplazadas por encima de las espermatogonias. Por lo tanto, para enero se asignó al testículo de los murciélagos la categoría "0" para el índice espermatogénico (**IE**; tabla 3, figura 11), que corresponde a la etapa inactiva de la espermatogénesis. El tejido intersticial fue abundante y por medio del índice de celularidad del tejido intersticial (**ICTI**; fig. 12) se calculó una mediana de 2607.31 de células/mm² de tejido testicular presentes.

En febrero el AT presentó un aumento con respecto al valor de enero ($33419 \mu\text{m}^2$); el tamaño promedio del AE de la fue de $3140 \mu\text{m}^2$; el lumen fue escaso, con un valor promedio para el área de $250 \mu\text{m}^2$ (fig. 9), se pudieron reconocer espermatogonias y espermatocitos (fig. 10), por lo tanto, se categorizaron con el valor de 1 para el IE que corresponde a la etapa proliferativa de la espermatogénesis (tabla 3, figura 11). La proporción mediana de las células del tejido intersticial bajo a 2156.58 células / mm² de tejido testicular. Durante los meses de mayo y junio, tanto el AT como el AE continúan incrementando; sin embargo, la mayor área registrada se alcanza en

agosto (AT= 8090 μm^2); así también se observó proliferación de las células germinales (IE= 2). El número de células del tejido intersticial disminuye a una proporción de 1193.73 y 728.60 células/ mm^2 de tejido testicular en mayo y junio respectivamente.

En noviembre disminuye el valor del AT y AE; en el epitelio seminífero ya se pueden apreciar espermatidas alargadas y gran cantidad de espermatozoides, por lo tanto, los testículos de los individuos de noviembre, se clasifican con un IE de entre 3, 4 y 5 (tabla 3, figura 11). Por su parte, el valor de LT alcanza su máximo (2672 μm^2) y el ICTI aumenta ligeramente (1208.12 células/ mm^2 de tejido testicular).

Para diciembre, los valores de AT y AE continúan disminuyendo (figuras 9, 10, 11, y tabla 3), pero continúan observándose espermatidas redondas, alargadas y espermatozoides en el epitelio seminífero representando principalmente un IE de 4. El valor del LT disminuyó hasta 379 μm^2 ; por otro lado, las células del tejido intersticial incrementó, ya que se calculó un ICTI de 2041.99 células/ mm^2 de tejido testicular.

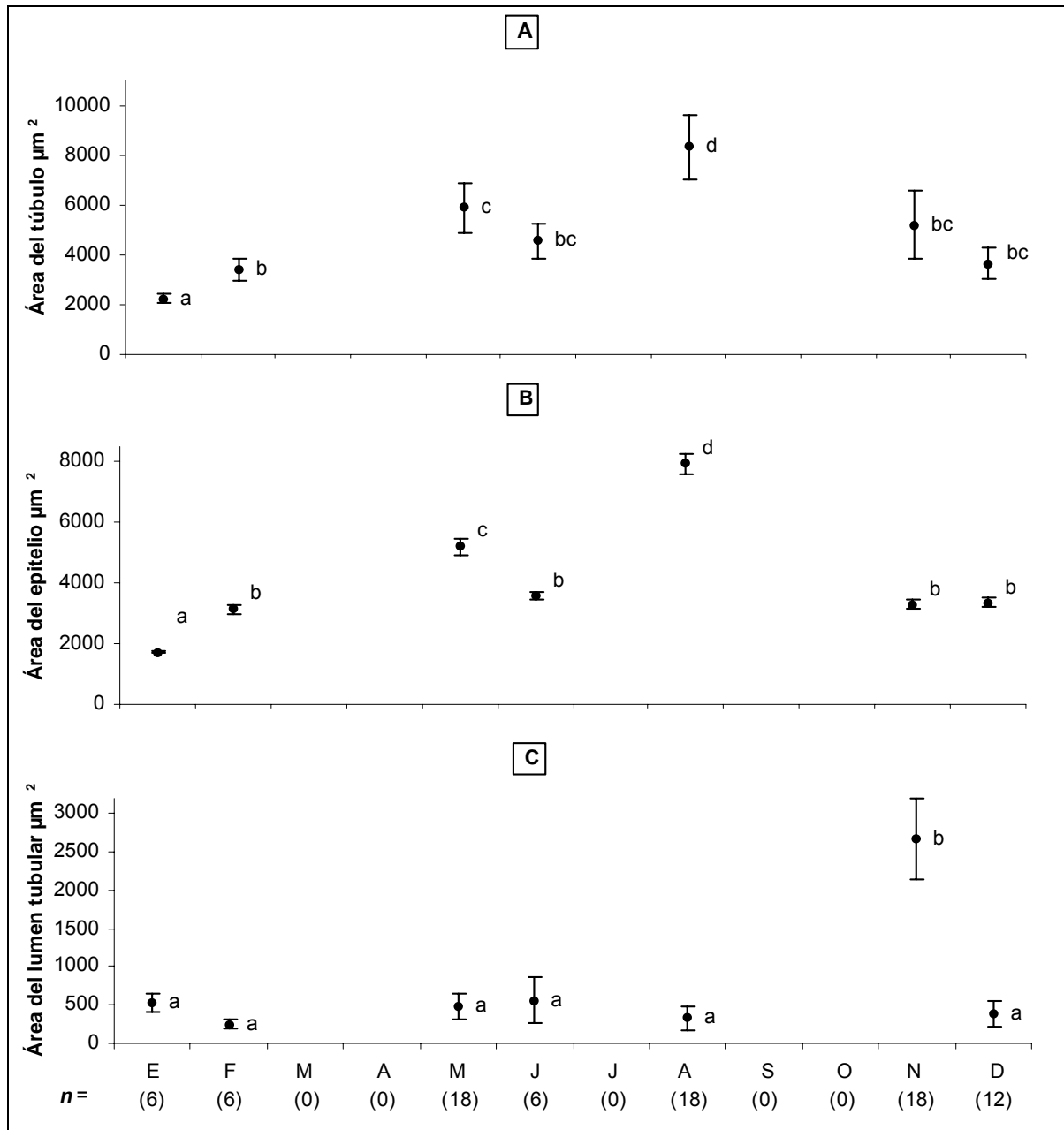


Figura 9. Variación de diferentes parámetros morfométricos de los túbulos seminíferos del testículo del murciélago *M. vivesi*, a través del ciclo anual. Área del túbulo seminífero transversal (A), Área del epitelio seminífero (B) y Área del lumen tubular (C). Los puntos representan la media (\pm d.e.) del número de túbulos seminíferos medidos, indicados entre paréntesis. Para cada murciélago estudiado se utilizó un testículo y de éste se midieron 6 túbulos seminíferos. Las letras indican las diferencias significativas en la comparación mensual (ANDEVA, Kruskal-Wallis, Bonferroni, $p < 0.05$).

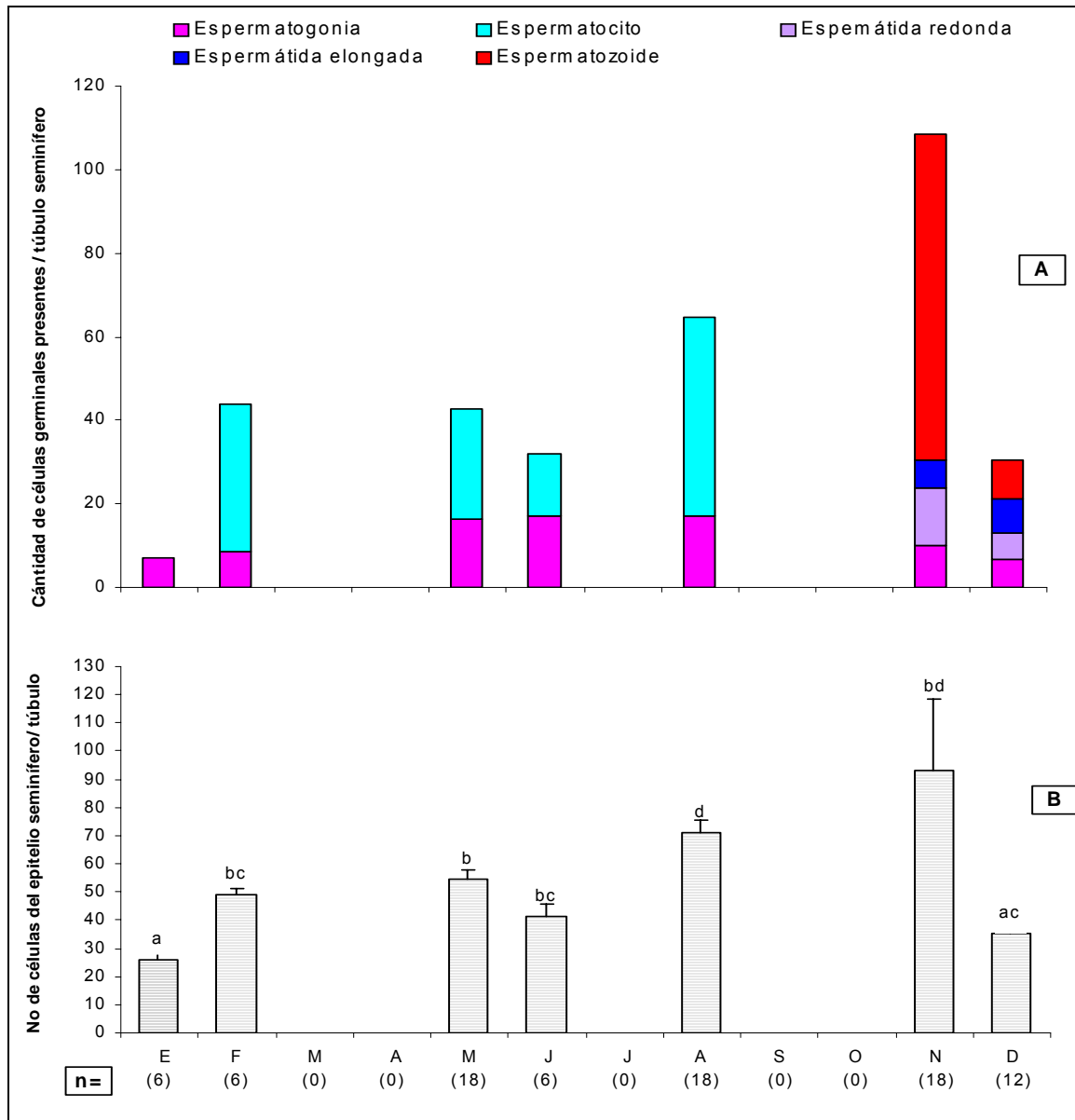


Figura 10. A Comparación mensual entre la cantidad de los diferentes tipos de células germinales presentes en el túbulo seminífero redondo (transversal) con respecto al total de células del epitelio seminífero. **B** Variación mensuales entre los diferentes tipos de células del epitelio seminífero (incluyendo las células de Sertoli) cuantificados por mes de captura de los murciélagos. Las barras representan el valor de la mediana ($\pm e.e.$) del número de células contadas por túbulo seminífero redondo (transversal). De cada murciélago estudiado se utilizó un testículo y de éste, se analizaron 6 túbulos seminíferos, indicados entre paréntesis. Letras diferentes indican las diferencias significativas (ANDEVA, Kruskal-Wallis, Man Whitney, $\alpha < 0.05$) cuando los datos fueron comparados mensualmente.

Tabla 1. Clasificación del Índice Espermatogénico de acuerdo con Grocock y Clarke (1974). Caracterización del ciclo testicular en función de la actividad espermatogénica para el murciélago *M. vivesi*. Esta clasificación se basa en las asociaciones de células germinales observadas en imágenes transversales de túbulos seminíferos para cada fecha de estudio, e indica la etapa de la espermatogénesis asignando valores del 1-4; mientras que la etapa inactiva se indica con 0, y la involución con un valor de 5. Para cada murciélago estudiado se utilizó un testículo y de éste se analizaron 6 túbulos seminíferos transversales, de manera que el valor del índice asignado representa de manera representativa la etapa de la espermatogénesis observada para la mayoría de los túbulos observados. No se incluye células de Sertoli porque se asume su presencia en cada etapa, sin embargo, en el caso de la espermatogonia cuando es único tipo de célula germinal presente (como en 0 = inactivo) se indica.

Índice	Etapa de la espermatogénesis	Tipos de células germinales observadas en el epitelio seminífero	Mes	No. de individuos
0	Inactivo	Espermatogonias	enero	1
1	Proliferativa	Espermatocitos	febrero-agosto	8
2	Meiótica	Espermatocitos y espermatidas redondas	—	—
3	Espermatogénesis	Espermatidas elongadas y espermatozoides	noviembre	1
4	Espermiación	Espermatozoides	noviembre-diciembre	2
5	Involución	Espermatozoides y espermatogonias	noviembre-diciembre	1

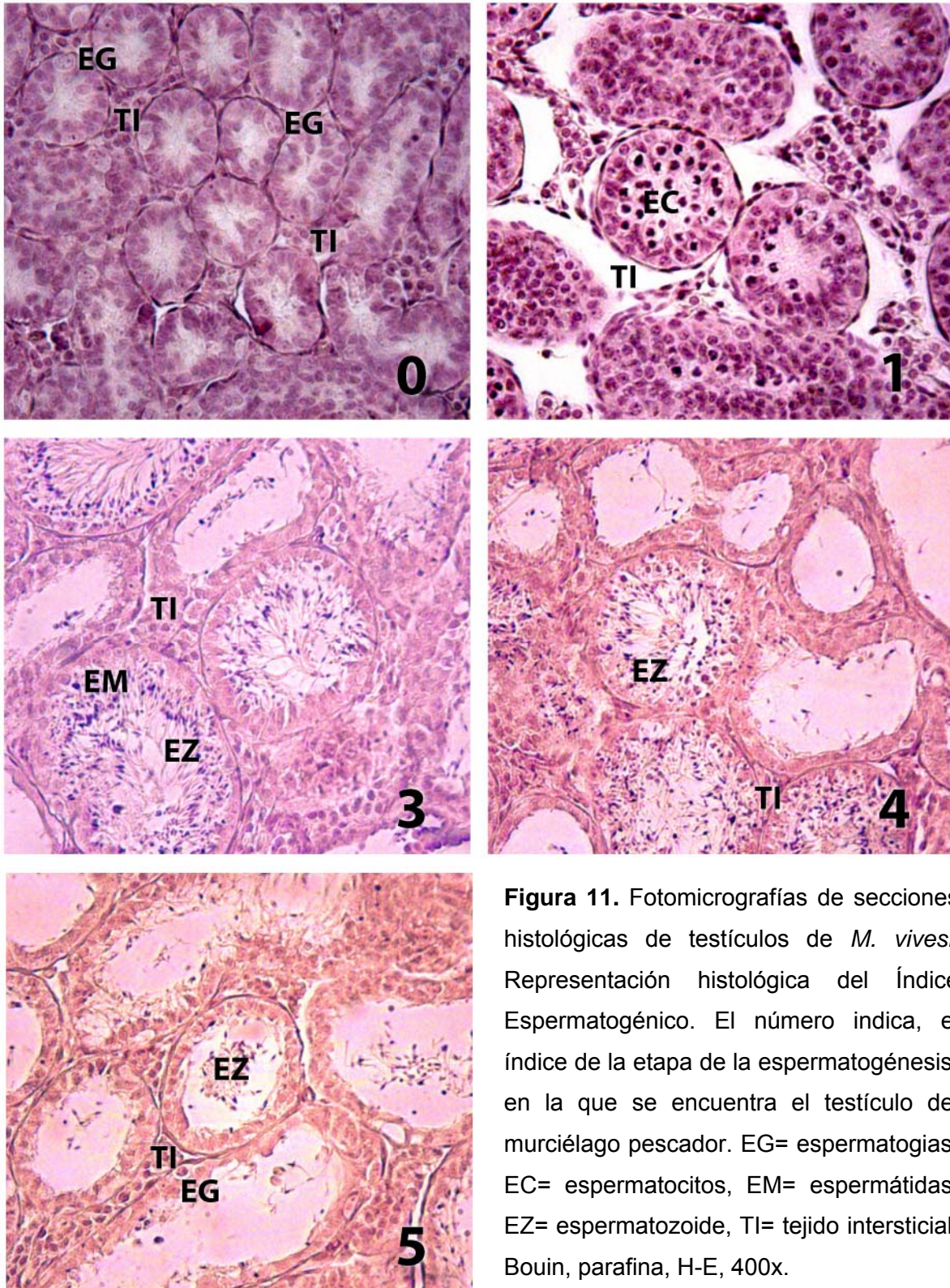


Figura 11. Fotomicrografías de secciones histológicas de testículos de *M. vivesi*. Representación histológica del Índice Espermatogénico. El número indica, el índice de la etapa de la espermatogénesis, en la que se encuentra el testículo del murciélago pescador. EG= espermatogias, EC= espermatocitos, EM= espermatídas, EZ= espermatozoide, TI= tejido intersticial. Bouin, parafina, H-E, 400x.

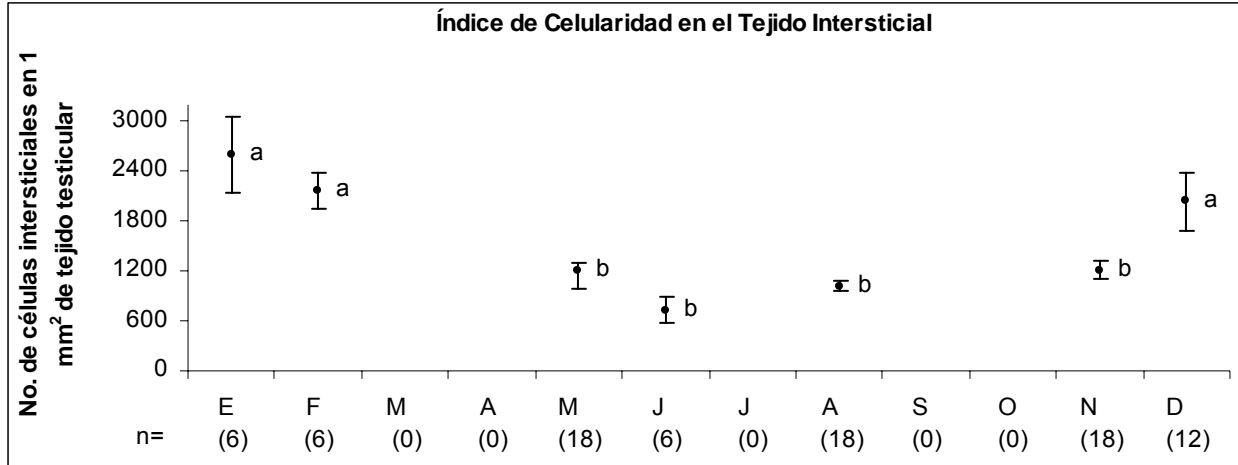


Figura 12. Cambios en el índice celularidad (No. de células intersticiales por 1 mm² de tejido testicular), los puntos en la gráfica representan la mediana (\pm e.e.) del índice calculado para el número de imágenes fotográficas indicadas entre paréntesis. Las letras indican las diferencias significativas (ANDEVA, Kruskal-Wallis, Man-Whitney, $\alpha < 0.05$) cuando los datos fueron comparados mensualmente.

5.2.2 Descripción de los cambios histológicos del epidídimo

En cortes histológicos se encontraron espermatozoides morfológicamente íntegros en la cola del epidídimo en los meses de noviembre y diciembre. Durante enero se encontraron fragmentos de espermatozoides en los conductos del epidídimo. En febrero se observaron espermatozoides solo en la región media caudal del epidídimo; en mayo se observaron espermatozoides fragmentados y macrófagos en las luces del conducto epididimario. Durante junio y agosto se ven los conductos epididimarios en estado de receso, con las luces vacías (figura 13).

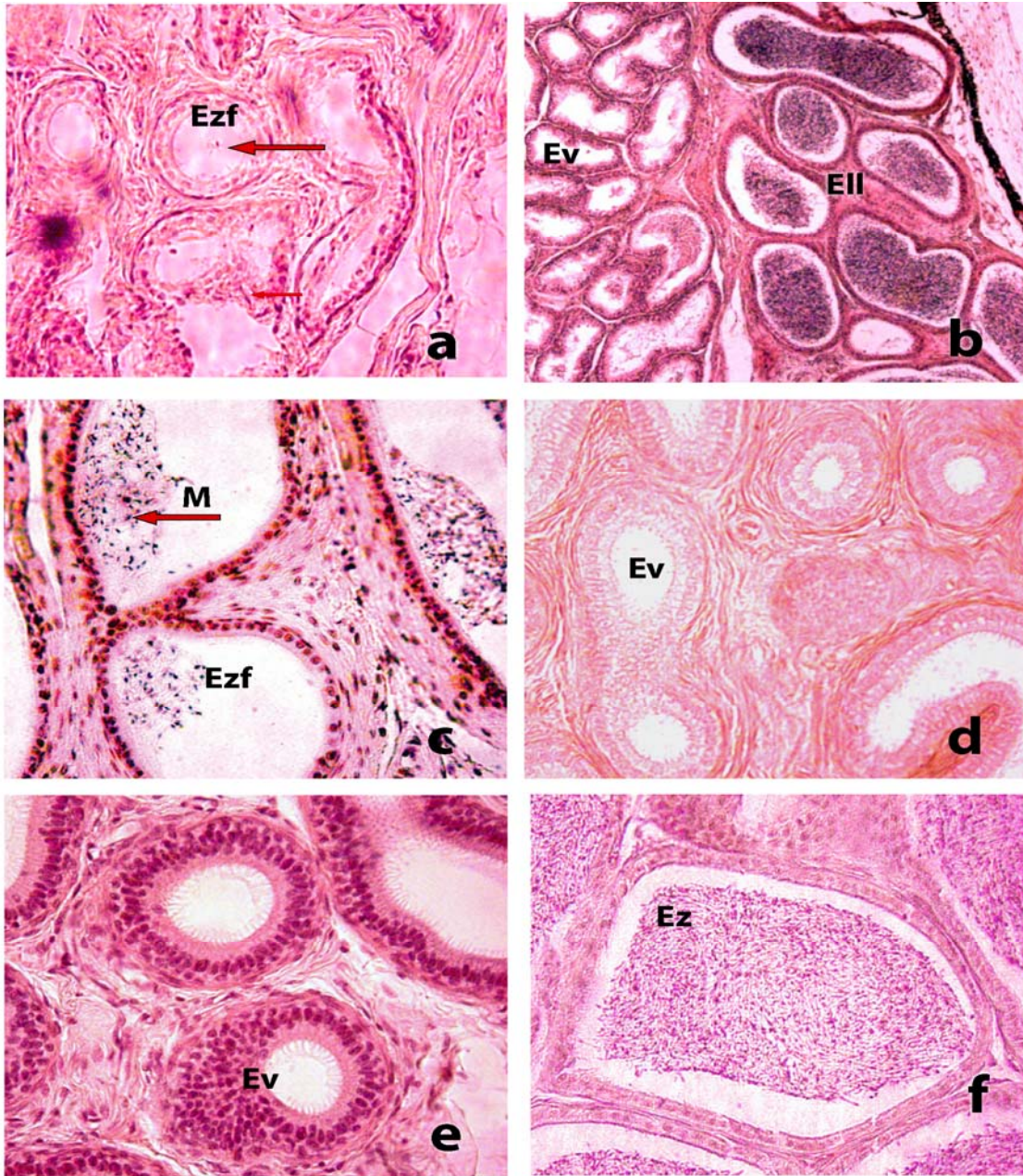


Figura 13. Fotomicrografías de secciones histológicas longitudinales del epidídimo (E) correspondientes a la región de la cola de *M. vivesi*, tomadas en diferentes meses del año para representar el ciclo epididimario; a: enero (espermatozoides fragmentados en las luces tubulares), b: febrero (región media cauda del E), c: mayo (macrófagos en los túbulos del cuerpo del E), d: junio(luz tubular vacía), e: agosto (luz tubular vacía), f: noviembre (lumen con epsermatozides). Ev= epidídimo vacío; EII= epidídimo lleno; Ez= espermatozoides, Ezf= espermatozoides fragmentados, M= macrófagos. Bouin, parafina, H-E; b = 100x; a, c, d , e y f =400x).

5.3 MORFOMETRÍA DEL ESPERMATOZOIDE

El espermatozoide maduro del murciélago *M. vivesi* presenta la cabeza en forma de espátula, el cuello y flagelo, se encuentran alineados centralmente al eje de la cabeza (fig. 14). Las medidas obtenidas para las principales regiones del espermatozoide se encuentran anotadas en la tabla 4.

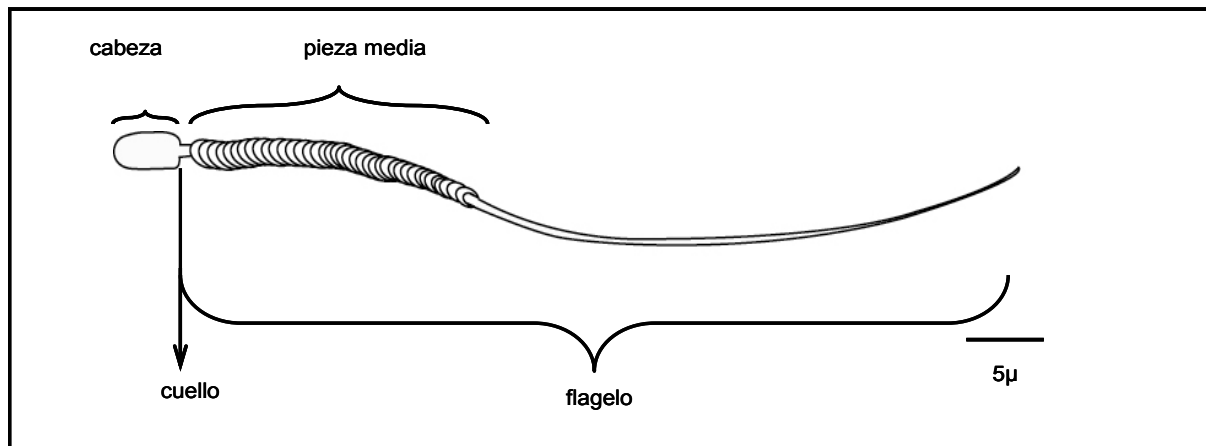


Figura 14. Esquema morfológico representativo del espermatozoide de *M. vivesi*. Se observa la cabeza en vista frontal, con forma de espátula, y una pieza media gruesa.

Tabla 2. Valores para las medidas de las principales regiones del espermatozoide de *M. vivesi*, obtenidos del conducto deferente.

	Dimensiones ± d. e.	<i>n</i>
Longitud total	56.61 ± 2.91 µm	61
Largo de cabeza	4.05 ± 0.22 µm	63
Ancho de cabeza	1.67 ± 0.28 µm	46
Cuello	0.99 ± 0.28 µm	57
Flagelo	52.28 ± 3.42 µm	64

5.4 MORFOMETRÍA DEL BÁCULO

El báculo tiene forma parecida a una silla de montar; en promedio, tiene una longitud de 1.06 mm en su eje central (C) y 1.12 mm en sus ejes laterales (B) el ancho del hueso (A) es de 0.47 mm (figura15).

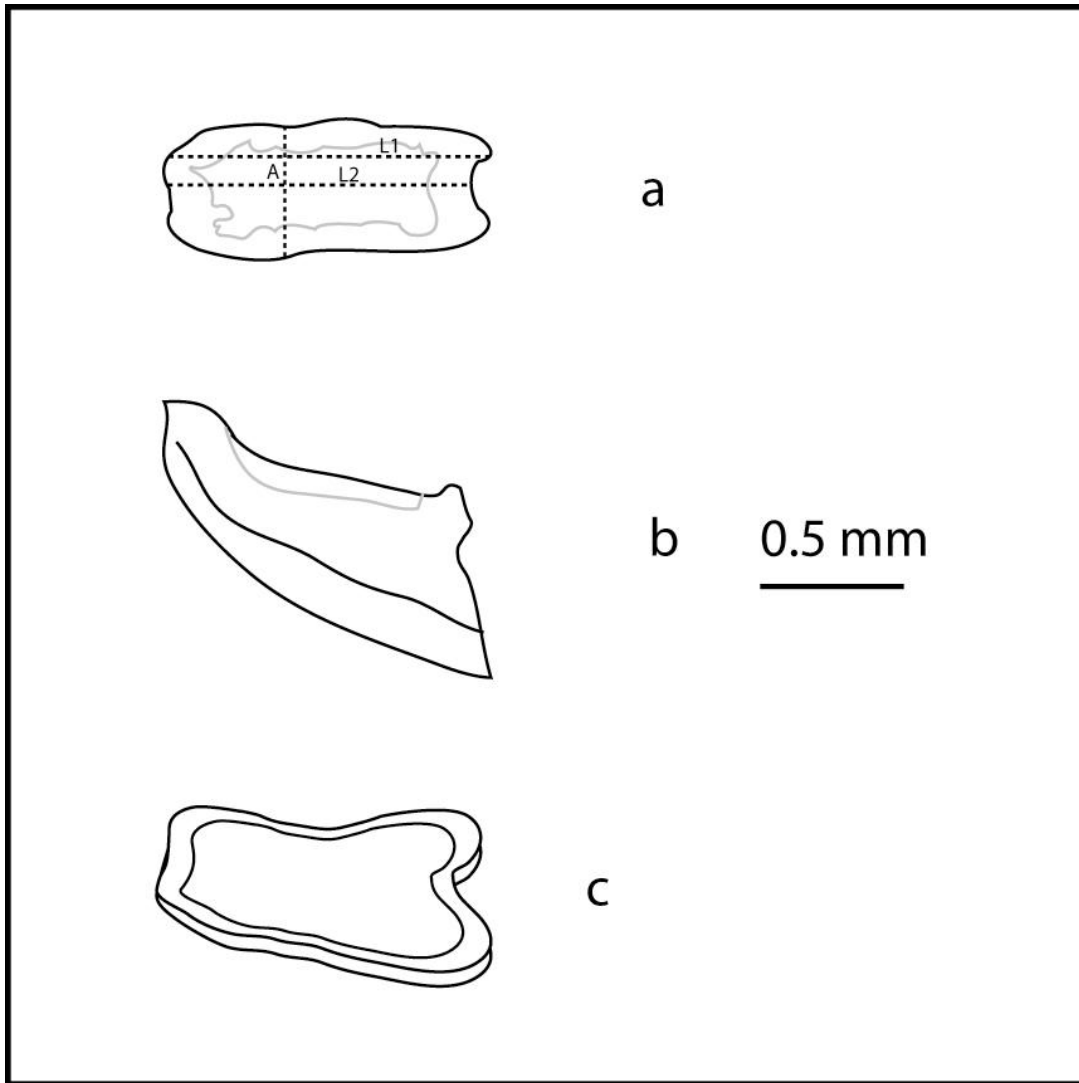


Figura 15. Ilustración del báculo de *Myotis vivesi* se puede observar la vista dorsal (a), lateral (b) y ventral (c), orientados de derecha a izquierda. Los dibujos se realizaron desde la posición anatómica original de un individuo adulto.

VI. DISCUSIÓN

En cuanto a la morfología del testículo observada a lo largo del ciclo anual, las medidas de la longitud testicular coinciden con los descritos por Maya (1968) donde los órganos aumentan su tamaño de febrero a octubre, alcanzando su valor máximo en este último mes.

Dentro de la familia Vespertilionidae es muy variable la morfología reproductora, particularmente en la conformación de las glándulas accesorias. El murciélago pescador *Myotis vivesi*, carece de vesícula seminal y en vez de ésta solo presenta glándula ampular como ya ha sido reportado en otras especies de la misma familia, como *Pipistrellus subflavus* (Krutzsch y Chrichton, 1986) y *P. pipistrellus* (Racey y Tam, 1974). La organización del aparato reproductor masculino de *M. vivesi* en general es muy parecida a la de *P. subflavus* (Krutzsch y Chrichton, 1986), sin embargo, difieren en la forma de la próstata, ya que *M. vivesi* tiene una forma bilobular, mientras que *P. subflavus* es de igual forma pero ventralmente incompleta.

La presencia de grasa en la región ventral del murciélago pescador también se ha observado en otras especies; las cuales acumulan reservas cuando existe la mayor disponibilidad de alimento para pasar la temporada invernal, donde la disponibilidad de alimento es baja (Studier et al; 1973 ; Migula, 1969). En el caso de *M. vivesi* esto tiene una doble finalidad, por un lado esta en relación con los requerimientos energéticos para la escasez de alimento durante el invierno y por otro lado para que el apareamiento se pueda llevar a cabo durante esta temporada.

En otros estudios histológicos se ha observado, que el máximo tamaño testicular esta asociado con la etapa donde ocurre el pico de la actividad espermatogénica (Gustafson, 1979). Por lo tanto para el caso del murciélago pescador, el tamaño testicular fue un indicador confiable del desarrollo de la espermatogénesis. Basado en lo anterior, el desarrollo testicular de *M. vivesi*

indica que la actividad espermatogénica ocurre de febrero a noviembre, mientras que la involución se da durante noviembre-diciembre, para finalmente permanecer en una condición de letargo reproductor durante enero.

La actividad espermatogénica de *M. vivesi* es semejante a lo descrito para otras especies de murciélagos vespertiliónidos y rinolófidos que habitan en zonas templadas como es el caso de otros miembros del género *Myotis* (Miller, 1942); *Rhinolophus hipposiderus* (Gaisler, 1966); *Nyctalus noctula* (Racey, 1974); *Pipistrellus pipistrellus* (Racey y Tam, 1974); *Nyctophilus geoffroyi*, *N. major* y *Vespadelus regulus* (Hosken, et al; 1998). Todas estas especies presentan espermatogénesis estacional durante el verano y el otoño, y la actividad espermatogénica termina antes del periodo invernal. Sin embargo, se ha visto que existe una variación en los eventos reproductores. Por ejemplo, para *Nyctophilus gouldi*, el pico de la espermatogénesis ocurre durante enero en el este de Australia (Phillips e Inwards, 1985); mientras que en *N. geoffroyi* y *N. major* (Hosken, et al; 1998) ocurre dos meses antes. Esta diferencia puede deberse a que, en las regiones donde se hicieron los estudios con estas especies los veranos son cortos, así pues, el fotoperiodo y la temperatura pueden influenciar la duración de los ciclos reproductores en los murciélagos machos (Beasley y Zucker, 1984).

Para algunas especies de murciélagos, sobre todo aquellas que habitan en zonas templadas, las hembras son monoéstricas, por lo que los machos presentan un solo ciclo de actividad reproductora por año. Además en ciertas especies, el ciclo reproductor de los machos presenta los principales procesos separados en tiempo. Primero se estimula la producción de espermatozoides durante el verano y este es almacenado en el epidídimo. Después que la producción de espermatozoides ha terminado, tienen lugar las cópulas durante el otoño (Neuweiller, 2000; Racey, 1982; Tidemann, 1993; Hosken et al; 1998). En general, este patrón se presenta para muchas especies de vespertiliónidos y rinolófidos (Gustafson, 1979). Para el caso de *M. vivesi*, Maya

(1968) reportó que el apareamiento ocurría de julio a septiembre; sin embargo, en este trabajo, al conjuntar la información de la morfología gruesa de los diferentes órganos reproductores masculinos de *M. vivesi*, con los datos histológico del testículo y del epidídimo, es posible considerar que Maya, tuvo una apreciación errónea o bien las condiciones para ese entonces han cambiado puesto que la cópula puede ser posible entre diciembre y enero, sobre todo porque fue en este periodo cuando las glándulas sexuales se observan grandemente desarrolladas y llenas con productos de secreción que como se sabe junto con los espermatozoides conforman el semen.

Para el caso de las dimensiones tubulares, el área promedio de los túbulos y del epitelio seminífero del murciélago pescador incrementó desde febrero hasta agosto donde se encuentra su mayor dimensión. Esto también ocurre en el murciélago *Taphozous georgianus* (Jolly y Blackshaw, 1987) en el cual, el epitelio seminífero y el diámetro tubular incrementó desde finales del verano a principios del invierno y al mismo tiempo también de espermátocitos, espermátidas, y espermatozoides.

La luz tubular alcanza su mayor dimensión en noviembre, cuando en el epitelio presenta solo espermatogonias células de Sertoli y escasas espermátidas redondas; mientras que los espermatozoides se observaron en la luz, lo que señala que se lleva a cabo la espermiación y el transporte de los espermatozoides hacia el epidídimo. A partir de diciembre, la luz tubular comienza a cerrarse, en febrero se encuentra cerrada y solo presenta espermatogonias y células de Sertoli, indicando el receso de la espermatogénesis. En los géneros (*Myotis*, *Eptesicus*, *Pipistrellus*, *Plecotus*, *Rhinolophus*, *Miniopterus*) que Courrier (1927) examinó, el ciclo del epitelio germinal es similar a lo que reportamos para *M. vivesi* durante el invierno; los túbulos están completamente en regresión y contienen solamente células de Sertoli involucionadas y espermatogonias ocasionales. En la primavera, la espermatogénesis

comienza y culmina en la liberación de esperma del testículo a finales de agosto y principios de septiembre, después de la cual hay una abrupta y completa involución de los tubos seminíferos. En esto último difiere con *M. vivesi* ya que en este vespertiliónido la liberación de los espermatozoides del epitelio seminífero hacia la luz ocurre en noviembre.

Por otro lado, el epidídimo de *M. vivesi* presenta una túnica vaginal pigmentada, como también es el caso de *M. daubentonii* (Encarnaço y Kierdorf, 2004) lo cual es característico de algunos murciélagos vespertiliónidos que almacenan espermatozoides, aunque el significado funcional de esta pigmentación no es conocida (Krutzsch y Crichton, 1987).

El tamaño del epidídimo del murciélago pescador empieza a incrementar a partir de agosto, en octubre y noviembre alcanza su mayor dimensión, en este último mes, es en el que se observa gran cantidad de espermatozoides en la cola del epidídimo, sin embargo, en los meses siguientes, aunque ya no hay actividad testicular se encuentran espermatozoides en la cola del epidídimo incluso en febrero y hasta mayo, pero la cantidad de éstas células germinales disminuye considerablemente y su apariencia es ya la de células en degeneración, inclusive también se observan leucocitos presentes. Durante los meses de junio a agosto el epidídimo se encuentra vacío y los conductos epididimarios contraídos. En los meses de enero y febrero el tamaño de las glándulas accesorias alcanzan sus mayores proporciones.

Se ha observado que el almacenamiento de espermatozoides no es exclusivo de especies de zonas templadas; este fenómeno también se ha registrado en algunas especies tropicales como en *Taphozous georgianus* que almacena espermatozoides en la cola del epidídimo por varios meses (Kitchener, 1973).

En el caso de *Rhinolophus cornutus* es capaz de almacenar espermatozoides dentro del epidídimo durante todo el año (Bernard et al; 1997; Kurohmaru et al; 2002) mientras que *Pipistrellus rusticus* almacena espermatozoides en el epidídimo por 5 meses (abril-agosto; Van der Merwe y Rautenbach, 1990). Por su parte en *Pipistrellus nanus*, los espermatozoides fueron almacenados por el macho desde mayo hasta septiembre (Bernard et al; 1997). Racey (1973) demostró que el esperma es almacenado en la cauda epididimal a través del invierno, y que puede ser viable después de 7 meses. Estos murciélagos machos usualmente almacenan espermatozoides por prolongados periodos, incluso después de que termino el periodo de apareamiento. Krutzsch y Crichton (1990) reportaron que en *Miniopterus shreibersii*, el almacenamiento de espermatozoides en la cauda del epidídimo persistió hasta finales de la primavera. Existen diferentes hipótesis acerca de porque se presenta este fenómeno. Una de ellas señala que el almacenamiento espermático permite sincronizar el momento en que el macho puede inseminar a una hembra receptiva, para que los nacimientos ocurran en el momento propicio del año en cuanto hay disponibilidad de alimento tanto para la madre (para la lactación), como para las crías al momento del destete (Bernard et al; 1997).

Por otro lado en *Nyctalus geoffroyi* las glándulas accesorias y la cola del epidídimo fueron creciendo durante el periodo de apareamiento de otoño/invierno; sin embargo ésta especie y muchos otros murciélagos concluyen la espermatogénesis antes de que el apareamiento comience (e.g Gustafson, 1979; Racey, 1982; Tidemann, 1993; Hosken, 1997, 1998).

Al observar el patrón de cambios del patrón para el índice de celularidad del tejido intersticial del testículo en *M. vivesi* se puede decir que hay una regresión del tejido intersticial, el cual esta conformado principalmente por las células de Leydig, después del invierno y esto no es consistente con el patrón típico de las especies hibernantes del género *Myotis* descrito por, Gustafson (1979) donde la regresión de las células de Leydig se presenta antes del invierno.

Desde luego es importante aclarar que para el caso de *M. vivesi*, el análisis fue realizado para todo el tejido intersticial por lo que es necesario futuros estudios en los que se revise exclusivamente los posibles cambios morfológicos y funcionales de las células de Leydig.

En estos estudios, los cambios observados en la histología de las células de Leydig sugieren que la actividad funcional ocurre durante el verano o a principios del otoño paralelamente con el periodo de actividad espermatogénica ("Patrón *Myotis*"; Gustafson, 1979). Asimismo se ha observado que las células de Leydig de menor tamaño estuvieron presentes durante el apareamiento y cuando las glándulas accesorias estaban llenos de productos de secreción. Dado que existe una aparente discrepancia, se ha sugerido por varios autores que la célula más pequeña pueden ser más activa, en cuanto a la producción y secreción de andrógenos. La aparente asincronía exagerada de las funciones espermatogénicas y endocrinas del testículo que ocurre en ciertos murciélagos ("Patrón *Pipistrellus*") y, del mismo modo, la función aparente del ciclo de células de Leydig que no coincide completamente con el periodo de actividad sexual secundario que ocurre en otros ("Patrón *Myotis*") han sido previamente revisados por Wimsatt (1960, 1969).

Los espermatozoides de especies dentro de un mismo género, mantienen similitudes muy cercanas entre sí (Gould et al; 1975; Fawcett, 1975; Austin, 1976), como en el caso del espermatozoide de *M. vivesi* que es parecido en forma al de *M. lucifugus* (Fawcett e Ito, 1965). En cuanto a las dimensiones del espermatozoide, la longitud de la cabeza difiere ligeramente, resultando mas grande la cabeza *M. lucifugus* ($4.3 \pm 0.30 \mu\text{m}$ x $1.8 \pm 0.25 \mu\text{m}$) que la de *M. vivesi* ($4.05 \pm 0.22 \mu\text{m}$ x $1.67 \pm 0.28 \mu\text{m}$). Por otra parte, el ancho de la cabeza del espermatozoide de *Nyctophilus geoffroyi* y *N. timoriensis* son de la misma magnitud que el respectivo parámetro para el murciélago pescador.

En cuanto a la medida del cuello del espermatozoide del murciélago pescador ($0.99\pm 0.28\mu\text{m}$), este es el primer reporte existente dentro del orden Chiroptera. Respecto a la longitud de la pieza media, es mayor en *M. vivesi* ($14.88\pm 1.25\mu\text{m}$) que en *M. lucifugus* ($12.7\pm 0.49\mu\text{m}$). Cabe mencionar que el ancho de la cabeza del espermatozoide del murciélago pescador es casi del tamaño de la pieza media, patrón semejante que se presenta en algunas especies de vespertiliónidos (Hill y Smith, 1992). El largo del flagelo y la longitud total del espermatozoide de *M. vivesi* (52.28 ± 3.42 ; $56.6\pm 2.91\mu\text{m}$) es mayor que los respectivos valores en *M. lucifugus* (51.9 y $51\mu\text{m}$). Se ha observado detalles particulares como las dimensiones de las regiones del flagelo, la forma, la dimensión del acrosoma y la longitud de la cabeza han sido propiciadas por los procesos de especiación (Gage, 1998; Craig y Ward, 1999).

El báculo de *M. vivesi* es un hueso que se encuentra en la parte distal del pene. La morfología del báculo ya ha sido reportada para esta especie por Hamilton (1949). El báculo del murciélago pescador es muy semejante en forma al de *M. grisescens* (Hamilton, 1949). La forma del báculo se utiliza como carácter diagnóstico en especies del mismo género (Albayrak y Asan; 2001), sin embargo, entre los individuos adultos de *M. vivesi* examinados existe cierta variabilidad morfológica, lo cual puede ser causado por la selección sexual como es señalado por Arnqvist (1997).

Aunque la morfología del báculo de *M. vivesi* ya ha sido reportada (Hamilton, 1949), no se aportan las medidas, aspecto que es complementado en este estudio, donde se encontró que la longitud (1.06 mm) es ligeramente mayor al reportado para *M. myotis* (0.99 mm), mientras que el ancho del báculo del murciélago pescador (0.47 mm) es menor que el de esta especie (0.51 mm; Albayrak y Asan, 2001). Otra medición tomada en este trabajo es la longitud menor que presenta el báculo debido a su morfología (1.12 mm) lo cual nos ayuda a entender mejor las dimensiones de esta estructura.

VII. CONCLUSION

El aparato reproductor masculino del murciélago pescador presentó algunas diferencias con respecto a otras especies de su mismo género, ya que careció de vesícula seminal principalmente.

El ciclo de la actividad testicular en términos de espermatogénesis fue como a continuación se describe: se llevó a cabo de febrero a noviembre y presentó regresión durante noviembre y diciembre. En enero se encuentra inactividad total. El área de los túbulos seminíferos, en corte transversal, y la del epitelio seminífero empezaron a incrementar en febrero, en diciembre el área tubular alcanzó su mayor tamaño y la luz tubular se encontró más abierta en noviembre y llena de espermatozoides.

El desarrollo de los órganos reproductores del macho está desfasado; es decir, que los testículos ya tuvieron su regresión mientras que, el epidídimo aún conservó espermatozoides viables en la parte caudal mucho tiempo después, de que se suspendió la espermatogénesis. Por otro lado, la mayor cantidad de células del tejido intersticial coincidió con el periodo cuando las glándulas accesorias (próstata y glándula ampular), están en su máximo punto de desarrollo, y la actividad reproductiva es máxima (es entonces cuando se podría llevar a cabo la cópula) en enero y febrero. Después el tejido intersticial del testículo comienza a involucionar.

El espermatozoide de *Myotis vivesi* es parecido en forma y tamaño al de otras especies de su mismo género en particular a *M. lucifugus*, cabe mencionar que sigue el patrón que se presenta en las especies de vespertiliónidos en la cual el ancho de la cabeza del espermatozoide es casi del tamaño de la pieza media. Se corroboraron los datos morfológicos del báculo que describió Hamilton (1949), el cual se puede señalar que es muy parecido en la forma al de *M. grisescens*,

y complementariamente se aportan las medidas para esta estructura esquelética del pene, lo cual puede ser utilizado con fines comparativos.

VIII. LITERATURA CITADA

- Albayrak, I. y Asan, N. 1998. Geographic variations and taxonomic status of *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) in Turkey (Chiroptera: Vespertilionidae). Doğa Tr. Journal of Zoology, 22 (4):1-9.
- Albayrak, I. y Asan, N. 2001. The structure of baculum in *Myotis myotis* and *Myotis blythi* (Chiroptera: Vespertilionidae) from Turkey. Turkish Journal of Zoology, 25:229-233.
- Ambriz, D., Contreras, J. L., Hernández, O., Mercado, E., Cervantes, F. y A. Rosado. 2003. Estudio Comparativo de los testículos, epidídimos, glándulas sexuales accesorias y espermatozoides en tres especies de lagomorfos (*Romerolagus diazi*, *Lepus californicus* y *Oryctolagus cuniculus*). Acta Zoológica Mexicana, 88: 257-269.
- Arnqvist, G. 1997. The evolution of animal genitalia: distinguishing between hypothesis by single species studies. Biological Journal of Linnean Society, 60:365-379.
- Austin, C. R. 1976. Specialization of gametes. En: Austin, C. R. y R. V. Short (eds.). The evolution of reproduction. Reproduction Mammals Series, book 6 Cambridge University Press. Londres, 149-182 pp.
- Ávila-Flores, C. y R. Medellín. 2005. *Myotis vivesi*. En: Ceballos, G y Oliva G. Los mamíferos silvestres de México. Fondo de la Cultura Económica. México D. F. 986 pp.
- Balinsky, B. I., 1983. Introducción a la Embriología. Ediciones Omega. Barcelona, España, 727 pp.
- Beasley L. J. e I. Zucker, 1984. Photoperiod influences the annual reproductive cycle of the male pallid bat (*Antrozous pallidus*). Journal of Reproduction and Fertility, 70:567-573.
- Bernard, R.T. F. 1997. Happold D. C. D. y M. Happold. Sperm storage in a seasonally reproducing African vespertilionid, the banana bat (*Pipistrellus nanus*) from Malawi. Journal of Zoology, 241: 161-174.
- Birkhead, T.R. y A. P. Møller. 1993. Sexual selection and the temporal separation of reproductive events: sperm storage data from reptiles, birds and mammals. Biol. J. Linn. Soc, 50:295-311.
- Blood, B. R. 1987. Convergent hind limb morphology and the evolution of fish-catching in the bats *Noctilio leporinus* and *Myotis (Pizonyx) vivesi* (Mammalia: Chiroptera). Ph. D. dissert, University of Southern California, Los Angeles, 186 pp.
- Blood, B. R. y Clark, M. 1998. *Myotis vivesi*. Mammalian Species. 588:1-3.
- Brachet, J. 1975. Introducción a la embriología molecular. H. Blume, Madrid, 227 pp.

- Burt, W. 1932. The fish-eating habits of *Pizonyx vivesi* (Menegaux). *Journal of Mammalogy*, 13:363-365.
- Cody, M., R. Moran, J. Rebman y H. Thompson. 2002. Plants. En: Case, T. J., Cody, M. L. y E. Ezcurra (eds.). *A New Island Biogeography of the Sea of Cortes*. Oxford University Press, Nueva York, 63-116 pp.
- Cody, M. y E. Velarde. 2002. Land Birds. En: Case, T. J., Cody, M. L. y E. Ezcurra (eds.). *A New Island Biogeography of the Sea of Cortes*. Oxford University Press, Nueva York, 699 pp.
- Craig W. La Munyon y Ward S. 1999. Evolution of sperm size in nematodes sperm competition favours larger sperm. *Proceedings of the Real Society of London B*, 266:263-267.
- Crichton, E. G. y Krutzsch, H. K. 2000. *Reproductive Biology of Bats*. Academic Press, Nueva York., 510 pp.
- Cummins, J. M. y P. F. Woodwall. 1985. On mammalian sperm dimensions. *Journal Reproduction and Fertility*, 75:153-175.
- Courier, R. 1923. Cycle annuel de la glande interstitielle du testicule chez les Chéiroptères. Coexistence du repos séminaler de l'activité génitale. *C. r. Séanc. Soc. Biol*, 88:1163-1166.
- Courier. R. 1927. Etude sur le déterminisme des caractères sexuels secondaires chez quelques mammifères á l'activité testiculaire périodique. *Archs Biol.*, 37: 336-352
- Encarnaçãõ, J. A., Dietz, M. y U. Kierdorf. 2004. Reproductive condition and activity pattern of male Daubenton's bats. *Mammalian Biology*, 69(3):163-172.
- Ewer, R. F. 1973. *The carnivores*. Cornell University Press, Nueva York, 544 pp
- Fawcett, D. W. y S. Ito. 1965. The fine structure of bat spermatozoa. *American Journal of Anatomy*, 116:567-610.
- Fawcett, D. W. 1975. Reviews article the mammalian spermatozoon. *Developmental Biology*, 44:394-436.
- Felten, H., Spitzenberg, F. y G. Storch. 1977. Zur Kleinsauger fauna West-Anatoliens. Teil III.a *Senck. Biol. Frankfurt*, 58 (1-2):1-44.
- Fish, F. E., Blood, B. R. y B. D. Clark. 1991. Hydrodynamics of the feet of fish-catching bats: influence of the water surface on drag and morphological design. *Journal of Experimental Zoology*, 258:164-173.

- Fleming, T. H. 1973. The reproductive cycle of three species of opossums and other mammals in the Panama Canal Zone. *Journal of Mammalogy*, 54:439-455.
- Forman, G. L. y H. H. Genoways. 1968. Sperm morphology. En: Baker, R. J., Jones, Jr. J. K., y D. C. Carter (eds.). *Biology of the bats of the New World family Phyllostomatidae*. pp. 177–204. Part III. Special Publications, The Museum of Texas Tech University Press, 16:1–441.
- Flores-Martínez, J. J., F. Chris, L. G. Herrera, y B. May. 2004. Genetic variation and population size of the fishing bat, *Myotis vivesi*, in Isla Partida. En: R. Medellín, y V. Sánchez-Cordero (eds.). *Homenaje a Bernardo Villa*. Universidad Nacional Autónoma de México, 185-190 pp.
- Gage, Matthew J. G. 1994. Associations between body size, mating pattern, testis size and sperm lengths across butterflies. *Proceedings of the Real Society of London B*, 258:247-254.
- Gage, Matthew J. G. 1998. Mammalian sperm morphometry. *Proceedings of the Real Society of London. B*, 265: 97-103.
- Gaisler, J. 1966. Reproduction in the lesser horseshoe bat (*Rhinolopus hipposideros hipposideros* Bechstein, 1800). *Bijdr. Dierk*, 36:45-64.
- García, E. 1987. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). 4ª ed. Offset Larios. México, D. F., 217 pp.
- Gould, K. G., Martin, D. E. y E. S. E Hafez. 1975. Mammalian spermatozoa. En: *Scanning Electron, Microscopic Atlas of Mammalian Reproduction*, Publishing Hafez, E. S. E. Igaku Shoin Ltd. Tokyo., 42-57 pp
- Gray, P. 1964. *Handbook of basic microtechnique* Mc-Graw-Hill, Nueva York, 302 pp.
- Greenwald, G.S. 1956. The reproductive cycle of the field mouse, *Microtus californicus*. *Journal of Mammalogy*, 37:213-222.
- Grocock, C. A. y Clarke, J. R. 1974. Photoperiodic control of testis activity in the vole, *Microtus agrestis*. *Journal of Reproduction and Fertility*, 39: 337-347.
- Gustafson, A. W. y Remesh, M. 1976. Changes in plasma testosterona levels during the annual reproductive cycle of the bat, *Myotis lucifugus lucifugus* with a survey of plasma testosterone levels in adult vertebrates. *Biology of Reproduction*, 15: 9-24.
- Gustafson, A. W. 1979. Male reproductive patterns in hibernating bats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 56:317-331.

- Gustafson, A. W. 1987. Changes in Leydig cell activity during the annual testicular cycle of the bat *Myotis lucifugus lucifugus*: histology and lipid histochemistry. *American Journal of Anatomy*, 178: 312-325.
- Hafez, E. S. E. 1970. *Reproduction and Breeding techniques for laboratory animals*. Lea and Febinger. Philadelphia., 375 pp.
- Hamilton, W. J. 1949. The bacula of some North American vespertilionid bats. *Journal of Mammalogy*, 30:97-102.
- Hill, J. E. y D. L. Harrison. 1987. The baculum in Vespertilionidae (Chiroptera, Vespertilionidae) with a systematic review, a synopsis of *Pipistrelus* and *Eptesicus*, and the descriptions of a genus and subgenus. *Bulletin of the British Museum (Natural History)*, Zoology, 52:225-305.
- Hill, J. E. y J. Smith. 1992. *Bats a natural history*. University of Texas Press. Austin, EUA, 242 pp.
- Hirth, F. G. 1960. The spermatozoa of some north American bats and rodents. *Journal of Morphology*, 106(1):77-83.
- Hosken, D. J. 1997. Sperm Competition in bats. *Proceedings of the Real. Society of London. B*, 264:385-392.
- Hosken, D. J., Blackberry, M. A., Stewart, T. B. y A. F. Stucki. 1998. The male reproductive cycle of three species of Australian vespertilionid bats. *Journal of Zoology of London*, 245: 261-270.
- Hosken, D. J. 1998. Sperm fertility and skewed paternity during sperm competition in the Australian long-eared bat *Nyctophilus geoffroyi* (Chiroptera:Vespertilionidae). *Journal of Zoology of London*, 245:93-100.
- Hosken, D. J., Jones, K. E. y K. Chipperfield. 2001. Is the bat os penis sexually selected? *Behaviour Ecology and Sociobiology*, 50:450-460.
- Humason, G. L. 1972. *Animal Tissue Techniques*. W. H. Freeman y compañía. San Francisco, 3ª ed 641 pp.
- IUCN, 2001. *IUCN Red list categories: Version 3.1*. Preparado por the IUCN Species Survival Commission. IUCN : Gland, Switzerland and Cambridge, Reino Unido.
- Jellison, W. 1945. A suggested homology of the os penis or os baculum of mammals. *Journal of Mammalogy*, 26:146-147.
- Jolly, S.E. y A. W. Blackshaw. 1987. Prolonged epidymal sperm storage, and the temporal disassociation of testicular and accessory gland activity in the common sheath-tail bat,

Taphozous georgianus, of tropical Australia. Journal of Reproduction and Fertility, 81:205-211.

- Kelly, D. A. 2000. Anatomy of baculum-corporis cavernosum interface in the Norway rat (*Rattus norvegicus*), and implications for force transfer during copulation. Journal of Morphology, 244:69-77.
- Kitchener, D. J. 1973. Reproduction in the common sheath-tailed bat, *Taphozous georgianus* (Microchiroptera: emballonuridae), in Western Australia. Journal of Australian zoology, 21: 375-389.
- Kurohmaru, M., Saruwatari, T., Kimura, J., Mukohyama, M., Watanabe, G., Taya, K. y Y. Hayashi. 2002. Seasonal Changes in Spermatogenesis in Japanese Lesser Horseshoe bat *Rhinolophus cornotus* from a Morphological Viewpoint. Okajimas Folia Anatomical Japanese, 79 (4):93-100.
- Krishna, A. 1985. Reproduction in the Indian pigmy pipistrelle bat. *Pipistrellus mimus*. Journal of Zoology of London (A), 206: 41-51.
- Krutzsch, P. H. 1975. Reproduction of the Canyon bat, *Pipistrellus hesperus*, in southwestern United States. American Journal of Anatomy, 143, 163-200.
- Krutzsch, P. H. 1979. Male reproductive patterns in nonhibernating bats. Journal of Reproduction and Fertility, 56:333-344.
- Krutzsch, P. H. y E. G: Crichton. 1986. Reproduction of the male eastern pipistrelle, *Pipistrellus subflavus*, in the north-eastern of United States. Journals of Reproduction and Fertility, 76:91-104.
- Krutzsch, P. H. y E. G: Crichton. 1990. Reproductive biology of the male bent-winged bat *Miniopterus schreibersii* (vespertilionidae) in south-east South Australia. Anatomical record, 139: 109-125.
- Kunz, T. H. 1982, Roosting ecology. En: Kunz, T.H. (ed.) Ecology of bats. Plenum Press, Nueva York, EUA, 425 pp.
- Leach, W. J. 1961. Functional anatomy, mammalian and comparative. McGraw-Hill. Nueva York, EUA, 338 pp.
- León-Galván M. A., López-Wilchis, R., Hernández-Pérez, O. Arenas-Ríos E. y A. Rosado. 2005. Male reproductive cycle of mexican big-eared bats, *Corynorhinus mexicanus* (Chiroptera: Vespertilionidae). The Southwestern Naturalist, 50(4):453-460.

- Long, C. A. y Frank, T. 1968. Morphometric variation and function in the baculum, with comments on correlation of parts. *Journal of Mammalogy*, 49: 32-43.
- López-Forment, W., Lira, I. E. y C. Mudespacher. 1996. Mamíferos: su biodiversidad en las islas mexicanas. AGT Editor, S.A. México D.F., 182 pp.
- Maya, J. 1968. The natural history of the fishing-bat *Pynzonyx vivesi*. Ph. D. dissert, University of Arizona, Tucson, 106 pp.
- Miller, G. S. y G. Allen. 1928. The American bats of the genera *Myotis* and *Pizonyx*. *Bulletin of the United States National Museum*, 144:1-218.
- Miller, R. E. 1939. The reproductive cycle in male bats of the species *Myotis lucifugus* and *Myotis grisescens*. *Journal of Morphology*, 64:267-295.
- Mori, T. 1995. Comparative sperm structure in bats (Chiroptera): some taxonomic and adaptative implications. *Mém. Mus. Natm. Hist. Nat.*, 166:421-429.
- Neuwailler, G. 2000. The biology of bats. Oxford University Press, 310 pp.
- Nickel, K. A Schummer y E. Seiferie. 1973. The viscera of the domestic animals. Paul Parey, Berlin, 360 pp.
- Organización Mundial de la Salud. 1989. Manual de laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. Ed. Panamericana, Argentina, 80 pp.
- Ottow, B. 1955. Biologische Anatomie der Genital organe und der Fortpflanzung der Säugetiere. Akademische Verlagsgesellschaft Geest, Jena, 327 pp.
- Patten, D. R. y L. T. Findley. 1970. Observations and records of *Myotis (Pizonyx) vivesi* Menegaux (Chiroptera; Vespertilionidae). *Contributions in Science, Natural History Museum of Los Angeles Conty*, 183: 1-9.
- Pongany, G. C. y Linder, K. A. 1993. Morphometric analysis of intact sperm heads and of sperm nuclei in the mouse. *The Anatomical Record*, 235:539-546.
- Phillips W. H. y S. J. Inwards. 1985 The annual activity and breeding cycles of Gould's long-eared bat, *Nyctophilus gouldi* (Microchiroptera: Vespertilionidae). *Australian Journal of Zoology*, 33: 111-126.
- Racey, P. A. 1973. The viability of spermatozoa after prolonged storage by male and female bats. *Periodical Biology*, 75:201-205.
- Racey, P. A. y W. H. Tam 1974. Reproduction in male *Pipistrellus pipistrellus* (Mammalia: Chiroptera). *Journal of Zoology*, 172:101-122.

- Racey, P. A. 1974. The reproductive cycle in male noctule bats, *Nyctalus noctule*. Journal of Reproduction and Fertility, 41: 169-182
- Racey, P. A. 1979. The prolonged storage and survival of spermatozoa in Chiroptera. Journal of Reproduction and Fertility, 56:391-402.
- Racey, P. A. 1982. Ecology of bat reproduction. En: Kunz, T. H (ed.). Ecology of Bats. Plenum Press, Nueva York y Londres, 57-104 pp.
- Reeder, W. F. 1953. The deciduous dentition of the fish-eating bat, *Pizonyx vivesi*. Occasional Papers of the Museum of Zoology, University of Michigan, 545:1-3.
- Reeder, W. y Norris, K. S. 1954. Distribution, type locality, and habits of the fish-eating bat, *Pizonyx vivesi*. Journal of Mammalogy, 35: 81-87.
- Romer, A. S. 1970. The vertebrate body . W. B. Saunders, Philadelphia, 601 pp
- Rzedowsky J. 1986. Vegetación de México. Limusa. México. 432 pp.
- Semarnat (Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiente-Especies nativas de México de flora y fauna silvestre-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación, 6 de marzo de 2002, 156.
- Schatten, G. 1988. Fertilization. En: Knobil, E. y N. Jimmy (eds.). Encyclopedia of Reproduction. Academic Press. San Diego, 256-264 pp.
- Smirnov, D. G. 2000. Variation in the baculum of bats (Chiroptera: Vespertilionidae) from the Middle Volga Basin and the adjacent territories. Plecotus et al; 3:20-34.
- Smirnov, D. G. y K. Tsytsulina. 2003 The ontogeny of the baculum in *Nyctalus noctula* and *Vespertilio murinus* (Chiroptera: Vespertilionidae). Acta Chiropterologica, 5(1):117-123.
- Springer, V. G. y G. D., Johnson. 2000. Use and advantages of ethanol solution of alizarin red S dye for staining bone in fishes. Copeia, 1:300-301.
- Statacorp, 2001. Stata statistical software, release 7.0. Stata Corporation, College Station, Texas.
- Strelkov, P. P. 1989a. New data on the structure of baculum in Palearctic bats I. The genera *Myotis*, *Plecotus* and *Barbastella*. En: Hanák, V., Horáček, I. y J. Gaisler (eds.). 1987. European Bat Research. Charles University Press, Praha, pp. 87-94.

- Strelkov, P. P. 1989b. New data on the structure of baculum in Palearctic bats II. Genus *Eptesicus*. En: Hanák, V., Horáček, I. y J. Gaisler (eds.). 1987. European Bat Research. Charles University Press, Praha, pp. 95-100.
- Taylor, L. R. 1963. Analysis of the effect of temperature on insects in flight. *Journal of Animal Ecology*, 32:99-117.
- Van der Merwe, M. y I. Rautenbach. 1990. Reproduction in the rusty bat. *Pipistrellus rusticus*, in the northern Transvaalbushveld, South Africa. *Journal of reproduction and fertility*, 89: 537-542.
- Villa, B. 1979. Algunas aves y la rata noruega *Rattus norvegicus* versus el murciélago insulano *Pizonyx vivesi* en las Islas del Mar de Cortés, México. *Anales del Instituto de Biología. UNAM. México* 50, Serie Zoología, 1: 729-736.
- Villa, B. y F. Cervantes. 2002. Mamíferos de México. Grupo Editorial Iberoamérica e Instituto de Biología UNAM. 140 pp.
- Vaughan, T.A. 1988. Mamíferos. Mc-GrawHill. España. 587 pp.
- Wimsatt, W. A. 1945. Notes on breeding behavior, pregnancy and parturition in some vespertilionid bats of the eastern United States. *Journal of Mammalogy*, 26:23-33.
- Wimsatt, W. A. 1969. Some interrelations of reproduction and hibernation in mammals. *Symposia of the Society of Experimental Biology*, 23:511-549.
- Wood-Jones, F. 1917. The genitalia of the cheiroptera. *Journal of Anatomy*, 51:136-60.

IX. APENDICES

APÉNDICE 1

Características morfométricas de los especímenes colectados de *M. vivesi*.

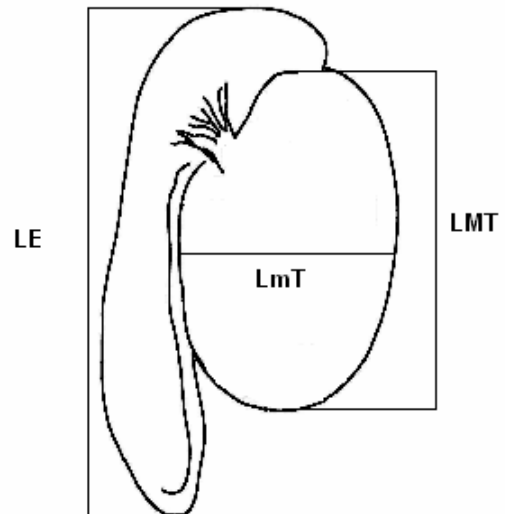
No. de individuo	Fecha de captura	Peso (g)	LA	LMTD	LmTD	(mm)			
						LMTI	LmTI	LED	LEI
1	03-Dic-06	20.7	59.3	6.4	3.9	6.4	3.3	21.6	20.7
2	03-Dic-06	22.3	62.3	NA	NA	4.9	2.7	16.2	14.8
3	03-Dic-06	22.6	60.6	4.5	3.2	4.7	2.7	20.0	19.1
4	11-Ene-07	23.4	63.5	5.0	2.5	5.1	2.2	14.6	16.0
5	25-Feb-07	28.0	59.0	5.2	3.2	5.1	3.1	18.5	18.5
6	26-May-07	26.0	63.0	5.0	4.0	11.0	4.0	16.0	15.0
7	26-May-07	24.0	65.0	10.0	4.0	11.0	5.0	14.0	19.0
8	27-May-07	28.0	65.0	5.0	4.0	12.0	4.0	20.0	17.0
9	23-Ago-07	29.1	60.8	7.4	4.4	6.6	4.5	20.3	18.3
10	23-Ago-07	28.8	58.8	7.0	3.1	6.8	3.6	16.5	13.0
11	23-Ago-07	24.5	58.4	6.7	4.5	6.2	4.1	15.6	16.2
12	28-Nov-07	31.0	62.0	17.0	5.0	17.0	6.0	22.0	24.0
13	28-Nov-07	33.0	65.0	NA	NA	NA	NA	11.0	12.0
14	29-Nov-07	30.0	66.0	10.0	3.0	8.0	5.0	19.0	20.0
15	25-Jun-08	23.0	58.0	5.8	2.9	6.7	3.6	9.5	10.3
16	25-Jun-08	21.0	60.0	6.8	3.0	5.6	3.6	11.9	11.5
17	26-Jun-08	22.0	61.0	6.3	3.3	7.9	3.6	11.9	11.9
18	15-Sep-08	26.0	57.3	11.0	6.3	11.6	6.3	17.7	16.9
19	16-Sep-08	26.0	57.3	4.7	2.5	4.4	2.7	11.6	13.0
20	16-Sep-08	25.0	59.1	11.4	5.7	10.7	5.6	22.7	19.0
21	21-Oct-08	24.0	58.6	10.3	5.8	11.3	6.5	21.1	23.8
22	21-Oct-08	28.0	60.6	10.0	6.3	11.2	6.1	21.6	22.4
23	21-Oct-08	28.0	58.4	7.5	4.9	6.5	4.9	18.0	19.0
24	22-Dic-08	44.0	57.3	4.5	2.9	4.5	3.5	17.0	18.2
25	22-Dic-08	46.0	59.7	4.3	2.8	5.0	2.8	17.4	17.9
26	22-Dic-08	28.0	61.2	5.3	3.2	4.7	2.9	21.5	19.7
27	22-Dic-08	26.0	56.9	5.7	2.9	6.3	2.4	20.7	19.7
28	19-Ene-09	20.0	58.0	6.9	3.0	7.0	3.6	19.0	18.7
29	19-Ene-09	26.0	57.7	6.4	4.0	6.3	3.4	20.8	21.8
30	19-Ene-09	25.0	58.2	4.5	2.4	4.9	2.8	16.5	18.9
31	29-Feb-05	31.0	58.7	5.1	3.2	5.4	2.9	11.1	18.7
32	29-Feb-05	25.0	60.0	6.1	3.1	6.0	3.4	18.5	18.4
33	29-Feb-06	26.0	60.2	NA	NA	5.8	2.7	NA	18.4
34	12-Abr-09	26.0	59.5	6.3	3.1	6.0	3.2	17.2	16.0
35	12-Abr-09	27.0	59.5	7.7	4.3	8.5	4.1	16.1	16.9

Abreviaturas: **LA** = Longitud del antebrazo, **LMTD**= Longitud mayor del testículo derecho **LmTD**= Longitud menor del testículo derecho, **LMTI**= Longitud mayor del testículo izquierdo, **LmTI**= Longitud menor del testículo izquierdo, **LED**= Longitud del epidídimo derecho, **LEI**= Longitud del epidídimo izquierdo y **NA**= Sin dato.

APÉNDICE 2

Medidas en mm registradas del testículo y el epidídimo

LMT= Longitud mayor testicular, **LmT**= Longitud menor testicular, **LE**= Longitud del epidídimo.



APÉNDICE 3

PREPARACIÓN DEL FIJADOR BOUIN- DUBOSCQ (Pantin, 1946 en Humanson, 1972)

Para fijar de 1 a 3 días (solución de 225 ml)

Reactivos:

- 1) Alcohol 80%.....150 ml
- 2) Formaldehído.....60 ml
- 3) Ácido acético glacial.....15 ml
- 4) Ácido Pícrico en cristales.....1gr

Procedimiento:

- 1) Se prepara al ser usado.
- 2) Primero se hace la solución del alcohol, formaldehído y el ácido acético. Esta solución debe estar mezclándose
- 3) Al final se agrega el ácido pícrico hasta que se disuelva.

APÉNDICE 4.

INCLUSIÓN

La inclusión se llevo a cabo en el Histokinet (Leika Mod TP 1020.) el cual llevó la siguiente programación:

VASO	SOLUCIÓN	TIEMPO
1)	Alcohol 70% I.....	1 hora
2)	Alcohol 70% II.....	1 hora
3)	Alcohol 80% I.....	1 hora
4)	Alcohol 80% II.....	1 hora
5)	Alcohol 100% I.....	1 hora
6)	Alcohol 100% II.....	1 hora
7)	Alcohol 100% I y Xileno I.....	1 hora
8)	Alcohol 100% I y Xileno II.....	1 hora
9)	Xileno I.....	1:20 horas
10)	Xileno II.....	1:20 horas
11)	Paraplast I.....	2 horas
12)	Paraplast II.....	7 horas

APÉNDICE 5

CORTES

- 1) Se preparó un baño de flotación a 45°C con una mezcla de agua y gelatina bacteriológica al 2%.
- 2) Se cortaron los bloques de Paraplast en un Kriostato (Leica Mod. CM 1510-3), mantenido a una temperatura de 0° C.
- 3) Los cortes fueron seriados y cortados a un grosor de 7 micras.
- 4) Los cortes histológicos se ponen en el baño de flotación y después se recogen con un portaobjetos y se dejan secar perfectamente.

APÉNDICE 6

TÉCNICA DE TINCIÓN HEMATOXILINA- EOSINA

Después de que los cortes se secaron perfectamente se hacen pasar por el proceso de tinción, a continuación se detalla los tiempos de cambio en cada solución utilizada:

- 1) Dejar en xilol por 5 min.
- 2) Dejar en xilol nuevo por 5 min.
- 3) Cambiar en alcohol al 100% y xilol (1:1) v/v por 3 min.
- 4) Dejar en alcohol al 100% por 2 min.
- 5) Dejar en alcohol al 100% nuevo por 2 min.
- 6) Cambiar en alcohol y éter (1:1) v/v por 2 minutos
- 7) Dejar en alcohol al 96% por 2 min
- 8) Dejar en alcohol al 80% por 2 min.
- 9) Dejar en alcohol al 60% por 2 min.
- 10) Realizar tres lavados con agua destilada.
- 11) Dejar en Hematoxilina por 7 min.
- 12) Realizar un lavado con agua corriente.
- 13) Realizar un lavado con alcohol ácido.
- 14) Realizar un lavado con agua destilada.
- 15) Cambiar en Solución de Scott por 5:30 min.
- 16) Realizar un lavado con agua destilada.
- 17) Dejar en Eosina por 3 min.
- 18) Realizar un lavado con alcohol al 96%.
- 19) Realizar un lavado con alcohol al 96% nuevo.
- 20) Realizar un lavado con alcohol al 100%.
- 21) Realizar un lavado con alcohol al 100% nuevo.
- 22) Realizar un lavado con alcohol y xilol (1:1) v/v.
- 23) Realizar un lavado con xilol.
- 24) Realizar un lavado con xilol nuevo.
- 25) Montaje: Las preparaciones se montan con una resina.

APÉNDICE 7

TINCIÓN DE PAPANICOLAOU SIMPLIFICADA PARA ESPERMATOZOIDES (Modificación de Hellinga,1976 en OMS, 1989)

Reactivos:

1. Alcohol al 70%,96%,100%
2. Alcohol Amoniacal = 45ml NH₄OH (25% v/v) + 955 ml de Alcohol (70% v/v)
3. Éter
4. Malinol
5. Solución de Papanicolaou 1
6. Solución de Papanicolaou 2
7. Solución de Papanicolaou 3
8. Xilol

Procedimiento:

- 1) Fijar los extendidos secados al aire en volúmenes iguales de etanol (95%) y éter durante 5 minutos.
- 2) Poner en solución Papanicolaou 1, durante 45 segundos
- 3) Enjuagar con agua corriente.
- 4) Poner 2 min en alcohol amoniacal
- 5) Enjuagar en alcohol (70%)
- 6) Enjuagar en alcohol (96%)
- 7) Poner 1 min en solución Papanicolaou 2.
- 8) Enjuagar 2 veces en alcohol al 96%
- 9) Poner 1 min en solución Papanicolaou 3.
- 10) Enjuagar en alcohol (96%)
- 11) Enjuagar en alcohol absoluto.
- 12) Poner en xilol 5 min.
- 13) Montar con resina

APÉNDICE 8

TÉCNICA DE TRANSPARENTACIÓN Y TINCIÓN DE HUESO CON ROJO S DE ALIZARINA (SPRINGER Y JOHNSON, 2000)

Reactivos:

2. Alcohol al 96%
3. Glicerina
4. Hidróxido de Potasio al 1%
5. Hidróxido de Potasio y Glicerina en proporción 4:1, 3:1, 2:1 y 1:1.
6. Solución de rojo S de Alizarina = rojo S de Alizarina al 0.1% en 100 ml de Hidróxido de Potasio al 1%.

Procedimiento:

- 1) Cortar el pene desde la base.
- 2) Fijar en alcohol al 96% por 2 días.
- 3) Cambiar a solución de Hidróxido de Potasio al 1% y glicerina proporción 4:1.
- 4) Agregar 2 gotas de solución de rojo S de Alizarina.
- 5) Cambiar la solución de Hidróxido de Potasio al 1% y glicerina proporción 3:1 e ir bajando la concentración cada día hasta llegar a la proporción de 1:1.
- 6) Dejar en glicerina pura.